



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**BACTERIOLOGIA OCULAR EM CANÍDEOS -  
- ESTUDO RETROSPECTIVO 2002-2010**

Sandra Daniela de Oliveira Subtil

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Professora Doutora  
Maria Constança Pomba

Professora Doutora  
Ana Cristina Gaspar Nunes Lobo Vilela

Professora Doutora  
Esmeralda Sofia Costa Delgado

Professora Doutora  
Ana Isabel Simões pereira Duarte

**ORIENTADORA**

Professora Doutora  
Esmeralda Sofia Costa Delgado

**CO-ORIENTADORA**

Professora Doutora  
Ana Cristina Gaspar Nunes Lobo Vilela

2010

**LISBOA**

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**BACTERIOLOGIA OCULAR EM CANÍDEOS -  
- ESTUDO RETROSPECTIVO 2002-2010**

Sandra Daniela de Oliveira Subtil

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Professora Doutora  
Maria Constança Pomba

Professora Doutora  
Ana Cristina Gaspar Nunes Lobo Vilela

Professora Doutora  
Esmeralda Sofia Costa Delgado

Professora Doutora  
Ana Isabel Simões pereira Duarte

**ORIENTADORA**

Professora Doutora  
Esmeralda Sofia Costa Delgado

**CO-ORIENTADORA**

Professora Doutora  
Ana Cristina Gaspar Nunes Lobo Vilela

2010

**LISBOA**

---

*À minha querida Mãe...*

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço naturalmente à minha família, que sempre me apoiou e acreditou que conseguiria atingir o meu objectivo, o meu sonho de infância, o desejo de me tornar médica veterinária. O meu sincero obrigado também aos meus amigos, muitos deles colegas desta caminhada difícil de seis anos, que tornaram este percurso bem mais agradável e enriquecedor, em especial à Ana Mota, Carla Almeida, Diana Nóbrega, Diana Ferreira, Fernando Lebre, Joana Leite, Joana Ramos, Rui Vidal e Tânia Horta; e ainda à Ana Catarina Lopes, Inês Salvado e Joana Palminha pelo companheirismo, simpatia e entreajuda durante o estágio, bem como a todos os funcionários e médicos veterinários do Hospital Escolar da FMV.

Não posso deixar de agradecer a todos os professores que me ensinaram, me educaram, me formaram, enfim, que partilharam a sua sabedoria e me deram um pouco de si. Um agradecimento muito especial à minha orientadora Professora Doutora Esmeralda Delgado, pelos seus ensinamentos, apoio e amizade durante o estágio e a realização deste trabalho; à minha co-orientadora Professora Doutora Cristina Vilela, pelo seu apoio e colaboração na elaboração desta dissertação; e ainda à Técnica Carla Carneiro pelo seu auxílio e simpatia durante o trabalho laboratorial.

A todos vós, o meu profundo agradecimento; tornaram-me uma pessoa mais ciente e, sem dúvida, mais feliz.

## RESUMO

O objectivo deste estudo foi avaliar a microbiota ocular presente em cães com sinais de doença ocular externa, bem como o seu padrão de susceptibilidade a agentes antimicrobianos.

Os isolados bacterianos, num total de 91, foram obtidos a partir de zangaratoas oculares colhidas de 76 canídeos com sinais de doença ocular externa. As amostras foram obtidas entre Janeiro de 2002 e Março de 2010, sendo processadas no Laboratório de Bacteriologia da FMV/UTL. Os testes de susceptibilidade a agentes antimicrobianos foram realizados pelo método de difusão em disco (NCCLS, 2002; CLSI, 2008).

As bactérias isoladas foram sobretudo Gram-positivas (76,9%), o género predominante foi *Staphylococcus* sp. (45%) e as espécies mais frequentes foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*, numa percentagem equitativa de 13,2%. Das bactérias Gram-negativas o género mais frequentemente isolado foi *Pseudomonas* sp. (9,9%) e, dentro deste, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (6,6%). Foi observada resistência a pelo menos um fármaco em 93,5% dos antibiogramas. Todos os staphylococci coagulase positivos testados exibiram resistências aos princípios activos amicacina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina e ofloxacina. Todos os staphylococci coagulase negativos evidenciaram resistência à associação amoxicilina/ácido clavulânico. Todos os isolados do género *Streptococcus* sp. demonstraram resistência ao ácido fusídico, ácido nalidíxico, estreptomicina, neomicina e tetraciclina. O género *Pasteurella* sp. (4,4%) apresentou resistências à ciprofloxacina, piperacilina, gentamicina e tobramicina. Oito fármacos (32%) revelaram-se ineficazes contra o género *Pseudomonas* sp., tendo este apresentado total susceptibilidade à ciprofloxacina e à piperacilina.

O estudo mostrou que os microrganismos mais prevalentes em doenças oculares externas de canídeos na população em estudo foram staphylococci, streptococci, *Pseudomonas* sp. e *Pasteurella* sp.. Os perfis de susceptibilidade dos isolados mostram elevadas taxas de resistência face a alguns dos princípios activos utilizados em terapêutica. A identificação de multirresistências vem reforçar a importância do uso racional dos antimicrobianos e a utilidade da realização de culturas microbianas e testes de susceptibilidade a agentes antimicrobianos, de forma a escolher a terapêutica mais apropriada.

**Palavras-chave:** cão, doenças oculares externas, bactérias, saco conjuntival, antimicrobianos, resistência aos antimicrobianos

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the ocular flora and antimicrobial susceptibility patterns of the isolated bacteria from naturally occurring canine external ocular diseases.

A total of 91 samples from 76 dogs with external ocular diseases were obtained and sent to the Bacteriology Laboratory from the Faculty of Veterinary Medicine of Lisbon. The samples were collected with sterile cotton swabs passed along the surface of the lower conjunctival sac or along the cornea. The susceptibility to antimicrobials was tested by the agar disc diffusion method, such as recommended by the NCCLS, 2002 and CLSI, 2008.

The isolated bacteria were mainly Gram-positive (76,9%), the genus most common was *Staphylococcus* sp. (45%) and the species most frequent were *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius* and *Streptococcus canis*, in an equivalent percentage of 13,2%. From the Gram-negative isolated bacteria, the most frequent genus was *Pseudomonas* sp. (9,9%) and, within this, the specie *Pseudomonas aeruginosa* (6,6%). Resistance to at least one drug was observed in 93,5% of the antibiograms. All staphylococci coagulase positive tested revealed resistance to ampicillin, nalidixic acid ciprofloxacin and ofloxacin. All staphylococci coagulase negative demonstrated resistance to the association amoxicillin/clavulanic acid. All streptococci tested were resistant to fusidic acid, nalidixic acid, streptomycin, neomycin and tetracycline. *Pasteurella* sp. (4,4%) showed resistance to ciprofloxacin, piperacilin, gentamicin and tobramycin. Eight drugs (32%) were ineffective toward *Pseudomonas* sp., having this genus revealed total susceptibility to ciprofloxacin and piperacilin.

This study highlights the most prevalent microorganisms occurring in ocular external diseases of dogs from the population studied (staphylococci, streptococci, *Pseudomonas* sp. and *Pasteurella* sp.). The identification of multiresistant strains against some of the antibiotics used in therapeutics emphasizes the need for a correct use of the antibiotics and the importance of bacterial culture and susceptibility testing in order to choose the appropriate therapy.

**Keywords:** dog, ocular external diseases, bacteria, conjunctival cul-de-sac, antimicrobials, antimicrobial resistance

## ÍNDICE GERAL

Dedicatória .....	i
Agradecimentos .....	ii
Resumo .....	iii
Abstract .....	iv
Índice de Figuras .....	vi
Índice de Tabelas .....	vii
Índice de Imagens .....	viii
Lista de abreviaturas .....	ix
 CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO TEÓRICA.....	1
I.1 - Doenças oculares em canídeos com componente infecciosa.....	2
I.1.1 - Blefarites infecciosas .....	2
I.1.2 - Conjuntivites .....	3
I.1.2.1 - <i>Ophthalmia neonatorum</i> .....	6
I.1.3 - Queratites .....	7
I.1.4 - Endoftalmites .....	9
I.2 - Bacteriologia Ocular .....	10
I.3 - Investigação laboratorial de doenças oculares bacterianas .....	15
I.4 - Terapêutica ocular .....	18
I.4.1 - Vias de administração .....	18
I.4.1.1 - Aplicação tópica .....	19
I.4.1.2 - Injecção subconjuntival .....	21
I.4.1.3 - Medicação sistémica .....	22
I.4.2 - Antimicrobianos .....	22
 CAPÍTULO II – MATERIAL E MÉTODOS .....	27
II.1 - Isolados bacterianos.....	28
II.2 - População em estudo.....	28
II.3 – Colheita.....	28
II.4 – Cultura .....	30
II.5 – Testes.....	30
II.5.1- Testes de Susceptibilidade a Antimicrobianos .....	31
II.5.1.1.-Teste de Susceptibilidade a Agentes Quimioterápicos por	
Difusão em Disco.....	31
II.6 – Casos clínicos acompanhados durante o período de estágio .....	33
II.7 – Análise estatística.....	39
 CAPÍTULO III – RESULTADOS .....	40
III.1 – Isolados bacterianos.....	41
III.2 – Testes de Susceptibilidade a Antimicrobianos .....	45
 CAPÍTULO IV – DISCUSSÃO .....	48
IV.1 – Isolados bacterianos .....	49
IV.2 – Testes de Susceptibilidade a Antimicrobianos .....	54
 CAPÍTULO V – BIBLIOGRAFIA .....	57
 CAPÍTULO VI – ANEXOS .....	62



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Blefarite e corrimento purulento .....	2
Figura 2 - Conjuntivite Bacteriana com abundante corrimento purulento .....	5
Figura 3 - Queratite ulcerativa evidenciada pela coloração com fluoresceína .....	8
Figura 4 - Aplicação de medicação tópica em solução .....	21
Figura 5 - Colheita de amostras bacterianas.....	29
Figura 6 - Realização do Teste de Schirmer .....	29
Figura 7 - Imagem de uma cultura bacteriana.....	30
Figura 8 - Imagem de uma galeria API.....	31
Figura 9 - Imagem de placas de TSA pelo método de Difusão em Disco .....	31
Figura 10 - Imagem de um TSA por Difusão em Disco .....	33
Figura 11 - Representação esquemática das zonas de inibição e zonas de crescimento de microrganismos.....	33
Figura 12 - Esquema simplificado da epidemiologia da resistência antimicrobiana.....	56

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Causas possíveis de conjuntivite canina .....	4
Tabela 2 - Preparações antimicrobianas manipuladas .....	8
Tabela 3 - Isolados bacterianos constituintes da flora conjuntival, segundo vários estudos .....	11
Tabela 4 - Bactérias isoladas de canídeos com doenças oculares externas .....	13
Tabela 5 - Exemplos de fenótipos com resistência intrínseca .....	16
Tabela 6 - Antimicrobianos de escolha para as bactérias mais comuns .....	23
Tabela 7 - Agentes antimicrobianos a utilizar no estudo das estirpes isoladas de zaragatoas oculares .....	32
Tabela 8 - Casos clínicos acompanhados durante o período de estágio . .....	33
Tabela 9 - Isolados bacterianos em estudo (Número e %) .....	41
Tabela 10 - Resultados das análises bacteriológicas das zaragatoas oculares efectuadas aos casos clínicos acompanhados durante o estágio .....	42

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelos staphylococci coagulase positivos e staphylococci coagulase negativos isolados.....	46
Gráfico 2 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelas bactérias do género <i>Streptococcus</i> .....	46
Gráfico 3 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelas bactérias Gram-negativas mais frequentes (géneros <i>Pseudomonas</i> e <i>Pasteurella</i> ). ....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

AK	Amicacina
AMC	Amoxicilina em combinação com o Ácido Clavulânico
AML	Amoxicilina
AMP	Ampicilina
C	Cloranfenicol
CAR	Carbenicilina
CAZ	Ceftazidima
CFP	Cefoperazona
CIP	Ciprofloxacina
CL	Cefalexina
CN	Gentamicina
CTX	Cefotaxima
DA	Clindamicina
DO	Doxiciclina
ENR	Enrofloxacina
EV	Endovenosa
FD	Ácido Fusídico
IM	Intramuscular
IPM	Imipenem
KF	Cefalotina
N	Neomicina
NA	Ácido Nalidíxico
OD	Olho Direito
OE	Olho Esquerdo
OFX	Ofloxacina
P	Penicilina
PCR	Polymerase chain reaction
PIO	Pressão intraocular
PRL	Piperacilina
QCS	Queratoconjuntivite seca
S	Estreptomicina
SC	Subcutânea
SXT	Sulfametoxazole + Trimetoprim
TE	Tetraciclina
TOB	Tobramicina
TSA	Teste de Susceptibilidade a Antimicrobianos

## CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO TEÓRICA

---

## I.1 – Doenças oculares em canídeos com componente infecciosa

### I.1.1 – Blefarites infecciosas

As blefarites estão normalmente associadas a um problema dermatológico primário com envolvimento posterior da conjuntiva. Existe um grande número de dermatoses que tem predisposição pela região periorbital. O diagnóstico específico está dependente de raspagens da pele e cultura bacteriológica (Bedford & Gareth, 2001). Os sinais clínicos dependem da condição primária e do grau de severidade e incluem corrimento ocular geralmente purulento, eritema cutâneo e alopecia periorcular. A infecção bacteriana é uma situação frequente, sendo o *Staphylococcus aureus* o agente mais frequentemente responsável (Slatter, 2001; Barnett, Sansom & Heinrich, 2002; Barnett, 2006).

As pálpebras podem estar afectadas por piodermas agudos ou crónicos. Nos cachorros, o pioderma juvenil afecta invariavelmente a região periorbital e é frequentemente complicado por uma linfadenite. Os sinais clínicos incluem eritema severo e edema da margem palpebral, prurido, dor, quemose e conjuntivite purulenta. A hipersensibilidade aos antigénios bacterianos está implicada nas infecções por *Staphylococcus*, o que se evidencia pela resposta clínica aos corticosteróides e por reprodução experimental da doença em coelhos (Slatter, 2001). Nos cães, uma infecção leve por *Staphylococcus* com libertação de toxinas causa queratite na metade superior da córnea com um padrão característico de vascularização e pigmentação. Infecções graves por *Staphylococcus* estão ainda associadas a Queratoconjuntivite Seca (QCS) prévia ou intermitente (Slatter, 2001). Além das bactérias, os agentes parasitários (sarna sarcóptica e sarna demodécica) e fúngicos (*Microsporum* spp e *Trichophyton* spp) podem estar implicados na inflamação periorbital. (Bedford & Gareth, 2001; Barnett, Sansom & Heinrich, 2002; Barnett, 2006).

**Fig. 1** - Blefarite e corrimento purulento (Original).



O tratamento da blefarite bacteriana não complicada consiste na limpeza cuidadosa das margens palpebrais para remoção dos exsudados purulentos, com algodão embebido em soro fisiológico tépido ou com kits de limpeza ocular comerciais, juntamente com a administração sistêmica de doses bactericidas de um agente antimicrobiano, aplicação tópica de pomadas com antimicrobiano; e colocação de um colar isabelino para prevenir o auto-traumatismo. Quando se confirma envolvimento de *Staphylococcus*, devem ser colhidas amostras para cultura e testes de susceptibilidade e, em casos severos, pode ser necessário o uso de corticosteróides em conjunto com a antibioterapia, se se suspeitar de hipersensibilidade. (Slatter, 2001).

### **I.1.2 – Conjuntivites**

A conjuntiva actua como barreira natural à entrada de microrganismos, sejam patogénicos ou não, e tem a função de protecção mecânica do globo ocular. É a membrana mais exposta do organismo e pode ser considerada um linfonodo evertido, constituindo-se um mecanismo de defesa bem desenvolvido, o que facilita uma rápida resposta à invasão de microrganismos. Além disto, a sua rápida renovação celular, que se dá a cada 5 a 7 dias, inibe a invasão de microrganismos que ali residem. Com a perda de continuidade do epitélio, bactérias e/ou fungos podem instalar-se de forma oportunista, colonizando e infectando o estroma corneano (Slatter, 2001).

A conjuntivite é a inflamação da conjuntiva. É um dos problemas oftalmológicos mais frequentes na maioria dos animais, sendo normalmente uma doença autolimitante que nem sempre requer tratamento. Tem sido classificada de diferentes formas, baseadas na duração, natureza do corrimento, aparência e etiologia. As conjuntivites podem ser unilaterais ou bilaterais, afectam qualquer idade incluindo o neonato, e podem ser primárias ou secundárias a outra doença ocular. No cão a conjuntivite é frequentemente secundária a outro problema. A etiologia das conjuntivites pode ser enumerada da seguinte forma: viral (ex. vírus da esgana), bacteriana (usualmente cocci Gram-positivos), parasitária (*Thelazia* spp), micótica (ex. Blastomicose), imuno-mediada ou alérgica (ex. atopia), física ou química (trauma, corpos estranhos, substâncias irritantes), por deficiências na produção lacrimal (QCS), lesões das pálpebras, iatrogénica, ou por causa desconhecida (Tabela 1) (Bedford & Jones, 2001; Crispin, 2005).

**Tabela 1 – Causas possíveis de conjuntivite canina (adaptado de Crispin, 2005).**

<b>Causas de Conjuntivite</b>	<b>Exemplos</b>
<b>Conjuntivite Primária ou Infecciosa</b>	
<b>Vírus</b>	Esgana
<b>Bactérias</b>	Cocci Gram-positivos
<b>Parasitas</b>	<i>Thelazia spp</i>
<b>Fungos</b>	Blastomicose
<b>Conjuntivite Secundária</b>	
<b>Alergia ou causa imunomediada</b>	Atopia
<b>Agressões físicas ou químicas</b>	Trauma, corpos estranhos, substâncias irritantes (fumo, detergentes, champô, ...)
<b>Deficiências na produção lacrimal</b>	Queratoconjuntivite Seca
<b>Lesões nas pálpebras</b>	Entrópion, Ectrópion
<b>Iatrogénica ou causa desconhecida</b>	Remédios caseiros, terapia inapropriada

Não é normalmente uma condição dolorosa mas causa um certo grau de irritação e, portanto, pode acompanhar-se de epífora e blefarospasmo. A conjuntivite pode ser aguda, com sinais de hiperémia, quemose, epífora e corrimento ocular variável, ou crónica, com congestão, espessamento e corrimento mais seco e menos abundante (Barnett, 2006). De acordo com o maior componente do exsudado, este pode ser descrito como seroso, mucoso, purulento ou uma combinação dos anteriores, mucopurulento (Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001). O tipo de corrimento ocular relaciona-se com a causa da conjuntivite, por exemplo, uma conjuntivite bacteriana apresenta geralmente um corrimento purulento ou mucopurulento, enquanto numa conjuntivite atópica o corrimento é seroso (Crispin, 2005).

As causas primárias de conjuntivite infecciosa são sobretudo bacterianas e virais. As causas virais estão normalmente associadas a doença sistémica, com frequência infecções do trato respiratório superior, e tendem a ser auto-limitantes (Barnett, Sansom & Heinrich, 2002). Uma grande variedade de espécies bacterianas foi implicada nas conjuntivites, mas os agentes patogénicos mais comuns são cocci Gram-positivos (*Staphylococcus* e menos vulgarmente *Streptococcus*). Podem ocorrer infecções mistas, mas as infecções anaeróbicas são pouco comuns (Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001; Barnett, Sansom & Heinrich, 2002; Crispin, 2005; Solari, Sousa, Freitas, Yu, Höfling-Lima, 2004).



**Fig. 2** – Conjuntivite Bacteriana com abundante corrimento purulento (Original).



O diagnóstico de conjuntivite é feito através da história, exame oftalmológico e exame físico geral. A investigação laboratorial é normalmente realizada em condições de infecção grave ou crónica, ou quando tal é necessário para confirmar o diagnóstico. Pode ser realizada colheita para cultura bacteriana, colheita de células para citologia, Polymerase Chain Reaction (PCR) ou testes de imunofluorescência, ou podem colher-se pequenas amostras de tecido para histopatologia ou PCR.

Quando os cães apresentam conjuntivite grave ou uma conjuntivite crónica que não respondeu ao tratamento inicial, deve ser realizada uma pesquisa bacteriológica (Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001). A cultura bacteriana não deve ser o procedimento inicial quando se determina a causa da conjuntivite, uma vez que vai provavelmente revelar um organismo presente na flora conjuntival normal, ou um patogénico comum. O insucesso da resposta de uma conjuntivite a uma terapia antimicrobiana geralmente resulta da falha na determinação da etiologia, e não duma escolha incorrecta do antimicrobiano. Várias causas de conjuntivite resultam no sobrecrecimento da flora normal, ou no crescimento de patogénicos comuns, portanto a causa da conjuntivite não deve ser atribuída às bactérias isoladamente. O sucesso do tratamento depende portanto da identificação e remoção da causa subjacente (Slatter, 2001; Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001).

O tratamento da conjuntivite consiste na aplicação de compressas quentes e húmidas para remover gentilmente o corrimento mais seco e na lavagem do olho para limpar o corrimento existente, antes da aplicação de qualquer medicação. A maioria dos casos de conjuntivite é auto-limitante, embora o tratamento com um antimicrobiano de largo espectro acelere o processo de resolução (Petersen-Jones et al., 2001). O tratamento com um antimicrobiano tópico de largo espectro é normalmente adequado na maioria dos casos de conjuntivite

bacteriana, e devem ocorrer rápidas melhoras dentro de 48 horas. A terapêutica antibacteriana inicial pode ser escolhida com base na coloração de Gram. Para microrganismos Gram-positivos é comum usar-se topicamente pomada de ácido fusídico como primeira escolha e cloranfenicol tópico (em pomada ou gotas) como segunda escolha. Se estão envolvidas bactérias Gram-negativas, o antimicrobiano de primeira escolha é a gentamicina. Infecções mistas podem ser inicialmente tratadas com uma preparação de largo espectro de acção, tal como a combinação de gramicidina, neomicina, e polimixina B. Para infecções confirmadas por *Staphylococcus*, os corticosteróides tópicos são também apropriados para reduzir a reacção de hipersensibilidade às suas toxinas (Crispin, 2005).

Quando a infecção bacteriana é crónica ou recorrente o diagnóstico deve ser revisto e um exame oftalmológico detalhado deve ser repetido. Se o tratamento inicial foi inadequado, o que pode ocorrer com o uso de anti-inflamatórios, a condição subjacente pode estar mascarada.

Parar todo o tratamento vai permitir um recomeço da situação e excluir os casos de conjuntivite que resultam de uma resposta alérgica ao uso abusivo de preparações antibióticas tópicas. Isto não é uma situação pouco comum, particularmente com os aminoglicosídeos, antibióticos que podem causar irritação severa, desconforto e inflamação (Barnett, Sansom & Heinrich, 2002).

Por exemplo, as melhoras transitórias com tratamento intermitente com um antimicrobiano em pomada devem alertar para a possibilidade de existir uma QCS subjacente como etiologia primária (Morales, Valinhos, Salvadego & Levy 2009). Além disso, a aplicação a longo prazo de um agente antimicrobiano quando não há evidência de uma infecção real pode conduzir a resistências aos antimicrobianos ou sobrecrecimento de organismos que estão fora do espectro de actividade do fármaco (Petersen-Jones et al., 2001).

#### **1.1.2.1 – *Ophthalmia neonatorum***

É uma conjuntivite neonatal em que as pálpebras dos cachorros permanecem encerradas além dos 7-15 dias após o nascimento e verifica-se uma infecção no fundo de saco conjuntival que pode ter complicações como ulceração corneana, ruptura do globo ocular e endoftalmite, daí que uma intervenção precoce seja imprescindível. Esta situação é extremamente dolorosa resultando no edema das pálpebras e num abundante corrimento ocular purulento. Os agentes causais são usualmente staphylococci coagulase positivos. A *Ophthalmia neonatorum* é mais comum nos gatos e nestes é preponderante o envolvimento do vírus herpes. O tratamento consiste na abertura das pálpebras como uma tesoura de bicos rombos, lavagem abundante do globo ocular e aplicação de antimicrobiano tópico de

largo espectro em pomada (normalmente cloranfenicol, ácido fusídico ou tetraciclina) para controlar a infecção bacteriana e manter a superfície ocular humedecida enquanto a produção lacrimal se estabelece (Bedford & Gareth, 2001; Barnett, Sansom & Heinrich, 2002; Crispin, 2005).

### I.1.3 – Queratites

A inflamação da córnea ou queratite, é caracterizada pela presença de vascularização corneana e de leucócitos. A queratite pode ser classificada como sendo ulcerativa ou não-ulcerativa.

Na queratite ulcerativa bacteriana estão frequentemente presentes uveíte secundária e hipópion, em conjunto com um corrimento purulento. Estas úlceras normalmente têm uma rápida progressão, resultando em descemetocelo. Córneas com ulceração profunda devem ser abordadas com cuidado e devem ser colhidas amostras para citologia e cultura. Um exame oftalmológico detalhado é essencial para detectar as causas predisponentes (Barnett et al., 2002).

As queratites infecciosas são frequentemente acompanhadas por um grau variável de comprometimento visual, sendo a infecção de etiologia bacteriana a causa mais frequente de infecção da córnea (Solari et al., 2004).

Quando temos queratites ulcerativas com infecção bacteriana, deve ser instituída antibioterapia tópica apropriada. Na maioria das infecções por microrganismos Gram-positivos é usado cloranfenicol tópico; para a maioria das infecções por Gram-negativos a gentamicina é eficaz. Para infecções mistas, a tripla preparação contendo polimixina B, neomicina e gramicidina é considerada útil. Quando está confirmada a infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, o fármaco de eleição é a gentamicina. Em raras ocasiões, quando a infecção é causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente à gentamicina, pode ser usada ciprofloxacina (Crispin, 2005). As pomadas não são recomendadas pois podem inibir a cicatrização corneana. Do mesmo modo, também não se aconselha o uso de aminoglicosídeos (nomeadamente, gentamicina) em úlceras superficiais e que não sejam causadas por *Pseudomonas*, devido à sua epiteliotoxicidade (Gellat, 2006).

As preparações líquidas fortificadas, que se obtêm concentrando o princípio activo numa concentração acima do habitual (Tabela 2), devem ser reservadas para úlceras complicadas e para quando haja penetração da córnea (Crispin, 2005).

Na QCS, os antimicrobianos são prescritos para controlar ou prevenir infecções locais. Recomenda-se o uso de antimicrobianos de largo espectro BID (Gellat, 2006).

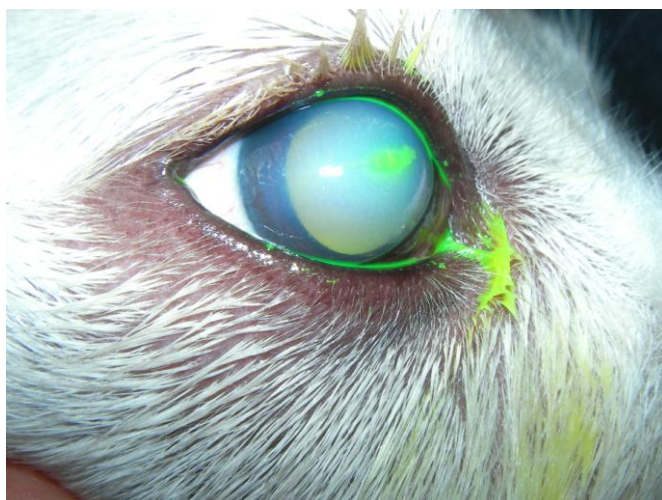
Nas úlceras do tipo «melting» a rápida dissolução do estroma corneano deve-se à produção excessiva de enzimas como proteases e collagenases. Estas são úlceras complicadas,

provavelmente de etiologia multifactorial, mas a infecção por *Pseudomonas* deve ser tida como uma etiologia possível. Certas estirpes de *Pseudomonas* têm a capacidade de produzir largas quantidades de proteases, as quais degradam o estroma da córnea e secretam exotoxinas que causam a morte das células estromais. A córnea assume uma textura gelatinosa. Este efeito pode também ser provocado por infecção fúngica ou queimaduras por produtos ácidos ou alcalinos. Estes casos são tidos como urgências oftalmológicas e o tratamento deve ser feito através de antimicrobiano de largo espectro, anti-colagenases (ex: acetilcisteína, soro autólogo) e analgesia sistémica (Barnett et al., 2002; Stanley, 2007).

**Tabela 2** – Preparações antimicrobianas modificadas (adaptado de Crispin, 2005).

<b>Gentamicina fortificada</b> (para organismos Gram-negativos)	100mg de solução de gentamicina adicionados a um frasco de 5ml de gentamicina tópica, faz uma solução de gentamicina fortificada de 14.3 mg/ml, estável por 30 dias (conservar no frigorífico).
<b>Cefazolina fortificada</b> (para organismos Gram-positivos)	15ml de solução de lágrimas artificiais adicionados a um vial de 500mg de cefazolina, faz uma solução fortificada de cefazolina de 33mg/ml estável por 48h (conservar no frigorífico).

**Fig. 3** – Queratite ulcerativa evidenciada pela coloração com fluoresceína (Original).



A investigação laboratorial (zaragatoa ocular para cultura) está indicada na maioria dos pacientes com suspeita de queratite infecciosa, pois pode minimizar a morbilidade secundária a um diagnóstico etiológico tardio, proporcionar conforto ao paciente e prevenir complicações que comprometam a visão (Solari et al., 2004). Esta investigação tem por objectivo identificar a presença de infecção causal ou como complicação secundária, e normalmente faz-se nos casos de ulceração grave (profundas ou com liquefacção do estroma). Nestes casos, sendo a úlcera um processo doloroso, aplica-se anestésico tópico previamente à colheita (Petersen-Jones & Renwick, 2001).

#### **I.1.4 – Endoftalmites**

A inflamação do trato uveal pode ser dividida em uveíte anterior (irite ou iridociclite), uveíte intermédia (pars planite) e uveíte posterior (coroidite). O envolvimento da retina é comum nas coroidites devido à proximidade anatómica entre a coróide e a retina, e o termo corioretinite é preferido. Na panuveíte, todo o tracto uveal está envolvido no processo inflamatório.

Existe uma grande variedade de causas endógenas e exógenas, incluindo: traumáticas, infecciosas, neoplásicas, metabólicas, parasitárias e tóxicas. As etiologias sistémicas devem ser consideradas sempre que ambos os olhos estão afectados. Dentro das endoftalmites caninas associadas a infecção, temos causas virais (hepatite infecciosa canina – CAV tipo I, herpes vírus canino e vírus da esgana), bacterianas (ex. leptospirose, infecções bacterianas sistémicas ou locais), doenças causadas por rickettsias (ex. *Ehrlichia canis*), doenças fúngicas sistémicas (blastomicose, criptococose, aspergilose, histoplasmore, etc.), e parasitas (leishmaniose, toxoplasmose, neosporose, migrações larvares) (Crispin, 2005). A uveíte infecciosa pode resultar de danos causados directamente pelo agente patogénico, por respostas imunomediadas ou pela circulação de endotoxinas. Tanto a septicémia como a toxémia são causas de uveíte (Barnett et al., 2002). Algumas doenças bacterianas disseminadas incluindo tuberculose (Zeiss et al., 1994), brucelose (Gwin et al., 1980) e borreliose (Munger, 1990) estão associadas a uveíte no cão.

## I.2 – Bacteriologia Ocular

Os tecidos da superfície ocular têm uma microbiota normal, a qual desempenha um papel na manutenção da saúde ocular normal ao prevenir o sobrecrecimento de potenciais agentes patogénicos (Gaskin, 1980; Gerding & Kakoma, 1990; Dupont et al., 1994; Andrade et al., 2002). Estes agentes patogénicos têm origem principalmente da pele e tracto respiratório superior (Rook, Shofer & Rankin, 2006).

O filme lacrimal tem um papel vital na manutenção da saúde da superfície ocular, mantém as células epiteliais hidratadas, fornece-lhes nutrientes e oxigénio e remove os resíduos e células descamadas. É provavelmente a primeira linha de defesa contra a infecção da superfície ocular, pois as lágrimas têm uma acção de lavagem, removem substâncias estranhas, e ajudam a prevenir a adesão dos microrganismos às células da superfície ocular. Além disso, o muco aprisiona e remove partículas materiais que contaminam o saco conjuntival. Existem substâncias antibacterianas não específicas nas lágrimas, tal como a lisozima, betalína e lactoferrina. Algumas imunoglobulinas específicas de protecção estão também presentes nas lágrimas e, além disso, o filme lacrimal providencia um caminho para os leucócitos atingirem a córnea em casos de doença ocular superficial (Petersen-Jones et al., 2001).

Os microrganismos mais comuns são bactérias Gram-positivas, embora mais raramente possam ser isolados organismos Gram-negativos, que se pensa serem transitórios e relacionados com fungos presentes no ambiente envolvente. Uma grande quantidade de bactérias é indicativa de infecção, embora alguns cães com uma má conformação palpebral possam acumular quantidades substanciais de bactérias comensais dentro do saco conjuntival (Haghkhan et al., 2005). Todavia, estes microrganismos podem tornar-se eles mesmos potenciais patogénicos quando ocorre uma lesão na córnea, ou em indivíduos cuja resposta imunitária está deprimida (Whitley, 2000; Solari et al., 2004; Winn et al., 2006).

A microbiota da superfície ocular depende da idade do cão, raça, localização geográfica, do clima e da estação do ano (Grahn, 2004; Galle & Moore 2007; Petersen-Jones & Crispin 2008). Tal como referido por Whitley (2000), os olhos de cães sem raça definida têm mais microrganismos que os caniches; os olhos de cães mantidos no jardim contêm mais microrganismos do que os que passam a maior parte do tempo dentro de casa; também existem mais microrganismos nos olhos de cães acima dos 2 anos de idade do que nos cães de idade inferior. Além disso, a frequência de conjuntivites bacterianas em certas raças, particularmente no cocker spaniel, é maior. Alterações oculares relacionadas com a raça tais como triquiase, lagoftalmos, olho seco, entropion e ectropion, vão comprometer os mecanismos de defesa oculares, irritando a flora conjuntival normal e predispondo a um

excessivo crescimento destes microrganismos ou à introdução de microrganismos patogênicos (Barnett et al., 2002).

Diversos estudos demonstram a presença de *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *Neisseria* spp., enterobacteriaceae, e *Pseudomonas* spp. (Gerding & Kakoma 1990; Andrade et al., 2002; Prado et al., 2005). No Ceará, Brasil, um estudo demonstrou que no saco conjuntival de cães clinicamente normais predominam as bactérias Gram-positivas, e o gênero mais isolado em cães com queratite ulcerativa foi o *Staphylococcus* spp. (Prado et al., 2005). Um estudo realizado em Beijim, na China, a partir de 29 olhos com queratite ulcerativa, concluiu que as bactérias mais frequentemente isoladas naquela amostra eram *Staphylococcus* spp, seguindo-se *Streptococcus* spp e *Pseudomonas* spp (Wang et al., 2008).

De acordo com vários estudos, os microrganismos mais frequentemente isolados de olhos com sinais clínicos são *Staphylococcus* spp, seguidas de *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp. e *Bacillus cereus*. Nos casos de conjuntivite e queratite infecciosa canina, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus* spp. são os agentes patogênicos mais frequentemente isolados, enquanto que as bactérias Gram-negativas são isoladas com menos frequência (Tolar et al., 2006).

**Tabela 3 –** Isolados bacterianos constituintes da flora conjuntival, segundo vários estudos.

Área e Microbiota	Porcentagem de casos com cultura positiva
<b>Western Unites States<sup>1</sup></b>	
<i>Diphtheroids</i>	75.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	46.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	24.0
<i>Bacillus</i> spp	12.0
Organismos Gram-negativos ( <i>Mima</i> [ <i>Acinetobacter</i> ] spp, <i>Neisseria</i> spp, <i>Moraxella</i> spp, <i>Pseudomonas</i> spp)	7.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\alpha$ - hemolíticos)	4.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\beta$ - hemolíticos)	2.0
<b>Midwestern Unites States<sup>2</sup></b>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	55.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	45.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\alpha$ - hemolíticos)	34.0
<i>Diphtheroids</i>	30.0
<i>Neisseria</i> spp	26.0
<i>Pseudomonas</i> spp	14.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\beta$ - hemolíticos)	7.3

**Tabela 3 (Continuação) – Isolados bacterianos constituintes da flora conjuntival, segundo vários estudos.**

Área e Microbiota	Porcentagem de casos com cultura positiva
<b>Eastern Australia<sup>3</sup></b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	39.0
<i>Bacillus</i> spp	29.0
<i>Corynebacterium</i> spp	19.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\alpha$ - hemolíticos)	5.0
<i>Streptococcus</i> spp (não hemolíticos)	3.0
<i>Micrococcus</i> spp	3.0
<i>Neisseria</i> spp	3.0
<i>Streptococcus</i> spp ( $\beta$ - hemolíticos)	2.0
<i>Pseudomonas</i> sp	1.0
<i>Nocardia</i> sp	1.0
<i>Escherichia coli</i>	1.0
<i>Clostridium</i> sp	1.0
<i>Enterobacter</i> sp	1.0
<i>Flavobacterium</i> sp	1.0
<i>Branhamelia catarrhalis</i>	1.0
<b>Shiraz, Iran<sup>4</sup></b>	
Staphylococci (Total)	36.51
<i>S. aureus</i>	30.16
<i>S. epidermidis</i>	6.35
Bacillus (Total)	26.98
<i>B. coagulans</i>	11.11
<i>B. spp</i>	6.35
<i>B. subtilis</i>	4.76
<i>B. cereus</i>	4.76
Streptococci (Total)	7.93
$\alpha$ - hemolytic streptococci	4.76
$\beta$ - hemolytic streptococci	3.17
<i>Escherichia coli</i>	6.35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4.76
<i>Lactobacillus</i> spp	4.76
<i>Neisseria</i> spp	4.76
<i>Alcaligenes faecalis</i>	3.17
<i>Klebsiella canis</i>	1.59
<i>Pasteurella canis</i>	1.59
<i>Francisella tularensis</i>	1.59

<sup>1</sup> Bistner SI, et al: Conjuntival bactéria: clinical appearances can be deceiving. Mod Vet Pract 50:45.

<sup>2</sup> Urban W, et al (1972): conjuntival flora of clinically normal dogs. Am J Vet Med Assoc 161:201, 1972.



<sup>3</sup> McDonald PJ, Watson ADJ (1976): Microbial flora of normal canine conjunctivae. J Sm Anim Pract 17:809.

<sup>4</sup> Haghkhah, M., Sarchahi, A. & Molazem, M. (2005). Conjunctival flora in normal dogs. *Online Journal of Veterinary Research* 9 (2) :79-83.

A tabela 4 evidencia as bactérias mais frequentemente isoladas de olhos de canídeos com doenças oculares externas.

**Tabela 4** – Bactérias isoladas de canídeos com doenças oculares externas (adaptado de Slatter, 2001).

Área e Microbiota	Percentagem de casos com cultura positiva
<b>Holanda*</b>	
<i>Streptococcus canis</i>	20.3
Sem crescimento	18.7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.8
Outros streptococci não patogénicos	7.8
<i>Nocardia</i> sp	7.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.1
<i>Corynebacterium</i> sp	4.6
Outros patogénicos <i>Streptococcus canis</i> sp – 3.1; <i>Proteus vulgaris</i> – 3.1; <i>Clostridium perfringens</i> – 1.5.	
<b>Colorado**</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	68.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	27.0
<i>Streptococcus</i> spp (β - hemolíticos)	19.0
<i>Streptococcus</i> spp (α - hemolíticos)	17.0
<i>Proteus mirabilis</i>	11.0
<i>Escherichia coli</i>	10.0
<i>Bacillus</i> spp	5.0
<i>Corynebacterium</i> spp – 3.0; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – 2.0; <i>Klebsiella</i> spp – 1.0	

**Tabela 4 (Continuação) – Bactérias isoladas de canídeos com doenças oculares externas (adaptado de Slatter, 2001).**

Ilinolis***	
<i>Staphylococcus</i> spp	39.4
Coagulase positivos	29.0
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	17.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	11.0
<i>Streptococcus</i> spp	25.2
Streptococci spp $\beta$ - hemolíticos	17.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.4

\* Informação obtida de Verwer MAJ, Gunnick JW (1968): The occurrence of bactéria in chronic purulent eye discharge. J Sm Anim Pract 9:33.

\*\* Informação obtida de Murphy JM, et al (1078): Survey of conjuntival flora in dogs with clinical signs of external eye disease. J Am Vet Assoc 172:66.

\*\*\* Informação obtida de Gerding PA, et al (1988): Pathogenic bacteria and fungi associated with external ocular diseases in dogs: 131 cases (1981 – 1986). J Am Vet Med Assoc 193:242.

No entanto, há que considerar que não se trata de matéria que dispensa novas e originais investigações, principalmente porque a mesma pode variar em função da sazonalidade e da região geográfica (Andrade, 2002).

Devido à variedade de microrganismos presentes, uma terapêutica empírica pode ser ineficaz (Slatter, 2001). Deste modo torna-se evidente que a cultura e o Teste de Susceptibilidade a Antimicrobianos (TSA) providenciam informação bastante proveitosa no diagnóstico e escolha da antibioterapia mais adequada em diversas doenças da córnea (Ollivier, 2003).

Um diagnóstico precoce e um tratamento apropriado são necessários para se obter uma recuperação de uma doença ocular. Apesar do seu papel como comensais nas superfícies mucosas e na pele, muitos staphylococci podem agir como patogénicos oportunistas que podem causar doenças graves (Varges, Penna, Martins, Martins & Lilenbaum, 2009).

### **I.3 – Investigação laboratorial de doenças oculares bacterianas**

Com frequência, as infecções extraoculares simples respondem rapidamente ao tratamento. Nas infecções graves ou nos casos refractários ao tratamento empírico inicial, torna-se necessário a realização de cultura e testes de susceptibilidade (Slatter, 2001). Por exemplo, está indicada a colheita de amostras para cultura bacteriana quando há inflamação purulenta grave à primeira apresentação, nos casos em que há inflamação persistente, purulenta ou não purulenta, que não responde a uma terapêutica antimicrobiana de rotina, se houverem lesões da córnea com aparência gelatinosa ou com uma grande área “geográfica” ou focal de opacidade do estroma, e quando existem lesões ulcerativas, seborreicas ou pruriginosas graves na região periocular ou das pálpebras (Slatter, 2001).

As culturas de tecidos oculares superficiais são normalmente submetidas para pesquisa de microrganismos aeróbios, enquanto colheitas de tecidos oculares mais profundos, obtidos por punção ou biópsia, poderão requerer análise anaeróbia. Contudo, é raro isolarem-se bactérias anaeróbicas (Petersen-Jones & Crispin, 2008). Porém, a presença de microrganismos de origem bacteriana nem sempre é significativa uma vez que, como já foi referido, poderão constituir elementos da microbiota normal do animal. A diferenciação entre os microrganismos patogénicos e os constituintes da microbiota normal pode ser difícil; no entanto, as culturas de microbiota normal tendem a ser mistas e normalmente apresentam apenas um ligeiro crescimento. Assim, os isolados obtidos na análise bacteriológica devem ser avaliados em função do respectivo caso clínico, de forma a decidir quais os microrganismos considerados importantes, referidos depois no resultado. É essencial que seja fornecida informação acerca dos tratamentos anteriores ou em curso, bem como das condições de colheita, transporte e armazenamento das amostras de forma a permitir avaliar a microbiota presente (Petersen-Jones & Crispin, 2008).

A colheita de amostras para cultura bacteriana deve ser feita antes da administração do agente antimicrobiano. Uma coloração de Gram de uma amostra correctamente colhida pode ajudar na identificação aproximada do agente mas, em muitos casos, torna-se necessário isolar e identificar o agente patogénico e determinar o seu perfil de susceptibilidade. Em certas situações a terapia antimicrobiana é iniciada antes do agente patogénico ter sido identificado. A escolha do antimicrobiano nestes casos é guiada pelos resultados de estudos que identificam os microrganismos patogénicos mais comuns em determinado local ou situação clínica, através de considerações farmacodinâmicas e ainda conhecendo os perfis de resistência do microrganismo patogénico esperado (Giguère & Walker, 2006).

Embora possa haver uma variação considerável na susceptibilidade das bactérias patogénicas aos agentes antimicrobianos, ainda existem bactérias que são uniformemente susceptíveis a fármacos baratos e não-tóxicos e portanto, na maioria das circunstâncias,

estas bactérias não necessitam de ser testadas. Os testes *in vitro* devem ser realizados sempre que a susceptibilidade do agente patogénico não possa ser prevista com base na experiência do clínico, quando se desconhece qual o microrganismo envolvido, ou como guia na escolha do antimicrobiano a usar. Algumas bactérias são intrinsecamente resistentes a agentes antimicrobianos particulares, e deste modo, é inapropriado e potencialmente contraproducente testar estas combinações de agentes patogénicos e princípios antibacterianos. Por exemplo, *Escherichia coli* e vancomicina, *Salmonella* e penicilina G, e enterococci e cefalosporinas (Tabela 5). Além disso, as bactérias que são tipicamente consideradas como contaminantes ou constituintes da microbiota normal não devem ser testadas. As razões incluem a despesa desnecessária, a possibilidade de conduzir o clínico a tratar a flora normal, a possibilidade do clínico optar pelos fármacos mais caros ou mais tóxicos, e o risco de se seleccionarem organismos resistentes através do uso inadequado dos agentes antimicrobianos (Walker, 2008).

**Tabela 5** – Exemplos de fenótipos com resistência intrínseca (Comunicado 2005 do Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie adaptado por Slatter, 2001).

<b>Organismos</b>	<b>Resistência Intrínseca</b>
<b>A maioria das bactérias Gram-negativas (<i>Enterobacteriaceae</i>, <i>Pseudomonas</i> spp.)</b>	Penicilina G, oxacilina, macrólidos, lincosamidas, streptogramins, glicopeptidos, bacitracina
<i>Klebsiella</i> spp.	Ampicilina
<i>Proteus vulgaris</i>	Ampicilina, cefalosporinas I, polimixinas
<i>Proteus mirabilis</i>	Tetraciclina, polimixinas
<i>Serratia marcescens</i>	Ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefalosporinas I, polimixinas
<i>Enterobacter</i> spp.	Ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefalosporinas I, cefoxitina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ampicilina, cefalosporinas I e II, ceftriaxone, canamicina, tetraciclina, cloranfenicol, trimetoprim, quinolonas
<i>Haemophilus</i> spp.	Estreptomina, canamicina, macrólidos
<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i>	cefalosporinas I, trimetoprim
<b>A maioria das bactérias Gram-positivas</b>	Polimixinas, quinolonas
<i>Streptococcus</i> spp.	Aminoglicosídeos (baixo nível)
<i>Enterococcus</i> spp.	Oxacilina, cefalosporinas, aminoglicosídeos (baixo nível), sulfonamidas (in vivo), trimetoprim (in vivo)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Oxacilina, cefalosporinas, lincosamidas
<i>Bacillus anthracis</i>	Cefalosporinas, trimetoprim, sulfonamidas
<b>Anaeróbios (incluindo <i>Clostridium</i> spp.)</b>	Aminoglicosídeos

De referir que os resultados obtidos pelos testes *in vitro* podem não ser aplicáveis ao uso do antimicrobiano *in vivo*, pois existe uma variedade de factores associados ao agente antimicrobiano, ao hospedeiro ou ao agente patogénico, que não são reproduzíveis no laboratório (Walker, 2006). O método de difusão em disco é o mais vulgarmente usado em medicina veterinária devido à sua flexibilidade no tipo e número de fármacos que podem ser testados diariamente e tem um custo relativamente baixo. A maior desvantagem deste método é o facto de os resultados serem qualitativos, isto é, são referenciados como susceptível, intermédio e resistente (SIR) (Walker, 2006). O clínico deve ter precaução ao interpretar o “S”, “I” e “R”, pois esta classificação é baseada nas concentrações que o fármaco atinge no plasma. E pelo facto de doses extremamente altas serem atingidas com aplicações tópicas sobre a conjuntiva, um antimicrobiano pode ser eficaz, apesar de ser declarado como resistente pelo laboratório (P. M. Dowling, S. A. Kruth, 2006).

Estirpes resistentes são seleccionadas após amplo uso de um fármaco, sobretudo devido a tratamentos implementados sem prévia cultura bacteriana e TSA. É importante determinar a susceptibilidade antimicrobiana dos microorganismos patogénicos associados a doenças oculares externas, pois o uso indiscriminado de antimicrobianos para profilaxia e tratamento de infecções menores prejudica a disponibilidade de medicamentos antimicrobianos para doenças graves (Varges, Penna, Martins, Martins & Lilenbaum, 2009). A frequência com que estão a emergir novos fenótipos resistentes dentro das bactérias patogénicas em medicina humana e veterinária é cada vez mais problemática. Infecções causadas por bactérias resistentes estão associadas a uma maior morbilidade e mortalidade (Helms et al., 2002; Travers & Barza, 2002; Varma et al., 2005). O uso correcto dos antimicrobianos existentes e o contínuo desenvolvimento de novos fármacos é vital para proteger a saúde humana e animal contra doenças infecciosas (Boerlin, & White, 2006).

## **I.4 – Terapêutica ocular**

A resistência antimicrobiana das bactérias em Medicina Veterinária está a crescer em todo o mundo, e o uso excessivo e inapropriado de antimicrobianos é considerado um dos mais importantes factores que influenciam este fenómeno (Lloyd, 2007). O impacto das práticas veterinárias de prescrição oftalmológica na resistência aos antimicrobianos é desconhecida e não foi adequadamente documentada (Wang, Pan & Zhang, 2008). A monitorização de resistências antimicrobianas nos isolados bacterianos em veterinária é de extrema importância, pois a resistência nos patogénicos animais pode conduzir a falhas no tratamento em pacientes individuais e pode colocar um risco zoonótico aos donos. Isto já foi demonstrado para *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (Jones, Kania & Rohrbach, 2007).

Estão disponíveis comercialmente inúmeras medicações oftalmológicas tópicas, frequentemente na combinação de antibiótico e corticosteróide, e estas são sobre-usadas sobretudo devido à inexistência de um diagnóstico específico. A terapêutica tópica ou sistémica de corticosteróides não requer a adição de antibióticos e vice-versa. São ambos necessários para diferentes objectivos, sendo que as formulações separadas são normalmente mais apropriadas para providenciar a concentração adequada de cada um (Grahn & Wolfer, 2001).

Quando um animal vai ser medicado em casa, a colaboração do dono é um factor importante. O dono deve ter tempo e capacidade para medicar o olho durante o período de tratamento. Ter em consideração o seguinte: as soluções tópicas são normalmente mais fáceis de aplicar do que as pomadas mas requerem aplicações mais frequentes; se as medicações são para aplicar durante um longo período de tempo, deve-se optar pelas formulações mais económicas (Grahn & Wolfer, 2001).

### **I.4.1 – Vias de administração**

O olho pode ser medicado topicamente, sistemicamente ou por injeção nos espaços subconjuntival, intraocular ou orbitário. Medicações tópicas ou subconjuntivais são apropriadas para a maioria das doenças da córnea. Doenças do segmento anterior podem ser medicadas topicamente, por injeção subconjuntival ou sistemicamente, enquanto as do segmento posterior, órbita e pálpebras requerem medicação sistémica (Grahn & Wolfer, 2001). A injeção retrobulbar é uma via de administração pouco usada que visa o tratamento de processos patológicos no segmento posterior do olho.

Os factores a ter em conta na escolha da via de administração incluem: as propriedades do fármaco, o local desejado de actuação, a frequência possível de administrações e a

concentração do fármaco requerida. Por exemplo, a polimixina B não pode ser dada sistemicamente pois é nefrotóxica, nem por injeção subconjuntival pois é irritante. Se se pretende uma alta concentração de fármaco na córnea e conjuntiva, então a via mais adequada é a aplicação tópica ou a injeção subconjuntival. Caso se pretenda uma elevada concentração no tracto uveal anterior, então as vias mais apropriadas são a injeção subconjuntival e a administração sistémica (apenas com substâncias que atravessem a barreira hemato-aquosa), ou aplicações tópicas frequentes. Quando há inflamação intraocular, a barreira hemato-aquosa está fortemente reduzida e os fármacos que normalmente não a ultrapassam podem então atingir o humor aquoso e o vítreo (Slatter, 2001). O tratamento de agentes patogénicos na superfície ocular apresenta características relevantes, nomeadamente o facto de a aplicação de antimicrobianos tópicos permitir atingir uma concentração local mais elevada do que a administração sistémica dos mesmos (Petersen-Jones & Crispin, 2008).

#### **I.4.1.1 – Aplicação tópica**

A via mais frequentemente usada na terapêutica ocular é a tópica. A penetração ocular de um medicamento tópico está dependente da sua concentração e da cinética no fundo de saco conjuntival, permeabilidade da córnea e da taxa de eliminação do medicamento do saco conjuntival. A produção lacrimal e o espaço dentro do fórnix conjuntival têm um efeito dinâmico nas medicações aplicadas topicamente. Os frascos de gotas comerciais libertam 25-50 µl/gota de solução ou suspensão, e ocorre de imediato um reflexo de lacrimejo após a aplicação da gota no olho. Só é retido um volume aproximado de 10-25 µl (varia com as espécies) no fórnix conjuntival e filme lacrimal. A aplicação de mais do que uma gota ao mesmo tempo não vai aumentar a quantidade de fármaco disponível pois o pestanejar e o lacrimejar vão escoar para o ducto nasolacrimal ou para fora da pálpebra o volume restante. É importante esperar pelo menos 5 minutos entre aplicações de medicações tópicas consecutivas. Apenas 20% do medicamento vai permanecer na superfície ocular após 5 minutos. Esta rápida redução é o resultado da drenagem pelo sistema nasolacrimal e absorção através da conjuntiva e sobretudo da córnea. Os fármacos administrados topicamente atingem o olho por 3 vias: penetração transcorneal, absorção pelos vasos sanguíneos conjuntivais que vão até ao corpo ciliar, e drenagem e absorção pelo sistema nasolacrimal. A absorção do fármaco do saco conjuntival pode ser muito rápida, resultando em níveis sanguíneos comparáveis com aqueles conseguidos através da via sistémica (Slatter, 2001). A penetração transcorneal é a via mais importante no tratamento de infecções intraoculares. Dadas as características histológicas da córnea, as medicações necessitam de ter características tanto hidrofílicas como lipofílicas; contudo, ao haver dano

na integridade da córnea, a maioria dos antimicrobianos atinge uma concentração eficaz no tecido infectado (Grahn & Wolfer, 2001; Dowling & Kruth, 2006).

As medicações tópicas oftalmológicas estão disponíveis em soluções, emulsões e pomadas. As pomadas possibilitam um maior tempo de contacto do fármaco com os tecidos oculares em comparação com as soluções, resultando numa maior concentração tecidular e portanto requerem administrações menos frequentes. Além disso, as pomadas são geralmente mais estáveis (Slatter, 2001). Por outro lado, são mais difíceis de aplicar e podem suscitar visão nebulosa e trauma auto-induzido (Grahn & Wolfer, 2001). Podem ainda interferir com a cicatrização corneal, embora se duvide que esta interferência seja clinicamente significativa. Uma vez que as pomadas oleosas causam inflamação intraocular grave, elas não são usadas quando há perfuração do globo ocular, nem antes ou após cirurgia intraocular, até a ferida ter fechado (Slatter, 2001). As gotas são mais facilmente aplicadas e a dosagem pode ser facilmente controlada e alterada. São, no entanto, mais rapidamente eliminadas com a produção de lágrimas, o que requer uma maior frequência de aplicação e/ou uma concentração do fármaco mais elevada. As soluções oftálmicas devem ser estéreis e, por isso, muitas delas contém conservantes, os quais podem ser tóxicos para os tecidos intraoculares e podem interferir com as tentativas de diagnóstico para isolar bactérias do saco conjuntival (Slatter, 2001).

Aquando da aplicação é preciso ter o cuidado de afastar o suficiente o fraco das gotas para evitar contaminação do medicamento ou eventual dano ao olho (Figura 4). Quando se aplicam as pomadas é preferível colocar 5mm da mesma num dedo lavado e depois aplicar a medicação na face conjuntival da pálpebra inferior. A breve oclusão do ponto lacrimal por alguns minutos após a aplicação da pomada vai aumentar a disponibilidade de medicamento ao reduzir a drenagem pelo ducto nasolacrimal (Grahn & Wolfer, 2001).

Se estiverem recomendadas soluções e pomadas, aplique primeiro as soluções. Espere alguns minutos (10-15min) entre administrações de diferentes medicações para permitir a absorção.



**Fig. 4 – Aplicação de medicação tópica em solução (Original).**



#### **I.4.1.2 – Injecção subconjuntival**

A injecção subconjuntival ultrapassa a barreira do epitélio corneano e permite uma concentração de fármaco mais elevada no segmento anterior do olho. Os midriáticos, os antibióticos e os corticosteróides são os grupos de fármacos mais administrados por esta via. Penicilina, gentamicina ou cefalosporina são antibióticos apropriados para injecções subconjuntivais (Dowling & Kruth, 2006).

Certas medicações, incluindo antibióticos, aumentam a sua penetração ocular com injecções subconjuntivais. Em alguns casos de pacientes agressivos ou não cooperantes, esta via pode ser a única forma de terapêutica. Através da injecção subconjuntival pensa-se que os fármacos entrem na circulação ciliar ganhando acesso à câmara anterior, todavia alguma quantidade é drenada pelo ponto lacrimal e absorvida directamente pela córnea. As vantagens, além da referida para pacientes não cooperantes, são o facto de poderem ser usadas durante a cirurgia e reduzir a necessidade de tratamento tópico pós-operatório; além disso, a concentração intraocular do fármaco é superior, sobretudo quando a penetração pela córnea é pobre, e assegura a administração da terapêutica quando a colaboração dos donos é pobre. As desvantagens incluem a necessidade de anestesia tópica e sedação, ou mesmo anestesia geral; poder predispor a glaucoma caso o fármaco seja de longa-duração; injecções de antibióticos ou atropina podem necessitar de ser repetidas a cada 24 horas; apresenta riscos associados como irritação no local de injecção, formação de granuloma, administrações intraoculares inadvertidas e a incapacidade de remover as medicações caso seja necessário (Grahn & Wolfer, 2001).

### **I.4.1.3 – Medicação sistémica**

A administração sistémica pode ser realizada oralmente, por via intramuscular, endovenosa, ou subcutânea, para a terapêutica de glaucoma, pálpebras, órbita, segmento posterior e doenças no nervo óptico. A barreira hemato-ocular é apenas penetrada por alguns fármacos lipofílicos de baixo peso molecular (ex. cloranfenicol). No entanto, com a inflamação ocular esta barreira está destruída, o que permite à maioria das medicações sistémicas penetrarem ao nível dos segmentos anterior e posterior (Grahm & Wolfer, 2001; Dowling & Kruth, 2006).

### **I.4.2 – Antimicrobianos**

A escolha certa do antimicrobiano é fundamental, pois a infecção é uma das causas mais importantes de complicação em doenças oculares. A terapia empírica inicial deve ser direccionada aos agentes bacterianos mais comuns, por exemplo *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Pseudomonas*, usando um antimicrobiano de largo espectro de acção, em conjunto com outros fármacos como lubrificantes e agentes anticolagenase (Slatter, 2005). Vários factores devem ser tidos em conta aquando da escolha de um antimicrobiano para uso clínico. Estes incluem a natureza da infecção, a identificação e susceptibilidade do agente patogénico, a farmacocinética e farmacodinâmica do fármaco escolhido, características do hospedeiro, o custo, a facilidade e ainda a via e a frequência de administração (Slatter, 2001; Walker, 2008). Ter ainda em conta que factores locais dos tecidos podem afectar a eficácia antimicrobiana. Por exemplo, pus e material necrosado podem ligar-se e inactivar a vancomicina ou os antibióticos aminoglicosídeos (gentamicina ou ampicilina), levando-os a serem ineficazes. Material celular pode igualmente diminuir a actividade de agentes tópicos como a polimixina B. O ambiente ácido dos tecidos infectados pode reduzir a eficácia da clindamicina, eritromicina, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos (Papich, 2001).

Ao escolher usar um determinado antimicrobiano, o clínico deve ter em mente que os agentes bactericidas são fundamentais nos seguintes casos: infecções que ponham em risco a sobrevivência; quando as defesas do hospedeiro estão seriamente prejudicadas; para infecções em tecidos vitais como o sistema nervoso central ou o sistema cardiovascular; em animais imunodeficientes ou imunodeprimidos. Para infecções de natureza menos grave, os agentes bacteriostáticos poderão ser mais úteis que os bactericidas. Se apropriado, agentes de espectro mais estreito podem ser mais adequados pois é menos provável que atinjam a flora microbiana normal (Guière & Walker, 2008).

Quando se suspeita de uma infecção ocular de origem bacteriana, a escolha do antimicrobiano é usualmente baseada no conhecimento dos agentes patogénicos mais prováveis na região, e sua provável susceptibilidade (Tabela 6) (Slatter, 2001).

**Tabela 6** – Antimicrobianos de escolha para as bactérias mais comuns (Adaptado de Slatter, 2001).

<b>Bactérias</b>	<b>Fármacos de escolha</b>
<b>Cocci Gram-positivos</b>	
<b><i>Staphylococcus</i> spp</b>	Neomicina, bacitracina, amoxicilina, cefalosporinas, eritromicina, fluoroquinolonas
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Gentamicina, oxacilina, meticilina, cefalosporinas, fluoroquinolonas
<b><i>Staphylococcus epidermidis</i></b>	Neomicina, gentamicina, eritromicina, fluoroquinolonas,
<b><i>Streptococcus</i> spp</b>	Penicilina, Cloranfenicol, amoxicilina, cefalosporinas
<b>Cocci Gram-negativos</b>	
<b><i>Neisseria</i> spp</b>	Penicilina, tetraciclina, sulfonamidas (± trimetoprim)
<b>Bacilos Gram-positivos</b>	
<b><i>Corynebacterium</i> spp</b>	Penicilina, tetraciclina, sulfonamidas (± trimetoprim)
<b>Bacilos Gram-negativos</b>	
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	Polimixina B, gentamicina, tobramicina, ampicilina, fluoroquinolonas
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina, fluoroquinolonas
<b><i>Enterobacter</i> spp</b>	Amoxicilina (± estreptomicina)
<b><i>Proteus</i> spp</b>	Gentamicina, fluoroquinolonas, tobramicina, ampicilina, cloranfenicol
<b><i>Hemophilus</i> spp</b>	Amoxicilina, tetraciclina
<b><i>Moraxella</i> spp</b>	Penicilina, tetraciclina

Os *Staphylococci* isolados dos pequenos animais são mais provavelmente *S. pseudintermedius* do que *S. aureus*. O *S. pseudintermedius* tem uma susceptibilidade previsível aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos resistentes às  $\beta$ -lactamases, como a combinação amoxicilina e ácido clavulânico, ou às cefalosporinas de primeira geração, como a cefalexina ou o cefadroxil. A maior parte dos *Staphylococci* é também sensível às fluoroquinolonas. Na sua maioria, são sensíveis às lincosamidas (clindamicina, lincomicina), trimetoprim-sulfonamidas, ou eritromicina, mas a resistência pode ocorrer em cerca de 25% dos casos. Se as bactérias são anaeróbias podemos optar por penicilina, cloranfenicol, metronidazol,

clindamicina, amoxicilina combinada com ácido clavulânico ou uma das cefalosporinas de segunda geração como a cefoxitina (Papich, 2001).

Se se tratar de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* ou *Proteus*, a resistência aos antimicrobianos comuns pode ser frequente e recomenda-se um teste de susceptibilidade. As bactérias entéricas Gram-negativas são normalmente susceptíveis às fluoroquinolonas e aos aminoglicosídeos. Embora as cefalosporinas de segunda e terceira geração sejam activas contra estas bactérias, não o são contra *Pseudomonas aeruginosa*. No caso duma infecção por *P. aeruginosa* pode haver susceptibilidade às fluoroquinolonas, aminoglicosídeos ou penicilinas de espectro alargado como a ticarcilina ou a piperacilina. Caso se opte pelas fluoroquinolonas, deve ser usada a dose mais elevada; dentro destas, a que se revela mais eficaz contra este agente é a ciprofloxacina (Papich, 2001).

Ter, no entanto, em atenção que infecções que não tenham sido previamente tratadas, normalmente têm um espectro de susceptibilidade diferente daquelas encontradas no meio hospitalar. Além disso, microrganismos que são resistentes *in vitro* podem ser susceptíveis *in vivo* ao mesmo antimicrobiano em concentrações adequadas e administrado por via apropriada (Slatter, 2001). Nem todas as bactérias patogénicas, mesmo aquelas da mesma espécie, são igualmente susceptíveis a um agente antimicrobiano. Por exemplo, a susceptibilidade de um patogénico como a *Pasteurella multocida* pode variar francamente ao mesmo agente antimicrobiano (Kehrenberg et al., 2006). Por outro lado, a susceptibilidade de uma população bacteriana pode alterar-se ao longo do tempo, especialmente se há uma exposição repetida ou continua a agentes antimicrobianos (Walker, 2008). O uso prolongado de um antimicrobiano altera dramaticamente a ecologia microbiana num dado ambiente, com os organismos menos susceptíveis a tornarem-se a população predominante (Marshall et al., 1990; Salyers & Amabile-Cuevas, 1997; Levy, 1998). Esta variabilidade na susceptibilidade das bactérias patogénicas aos vários agentes antimicrobianos disponíveis para uso clínico pode ser apurada quando se submetem essas bactérias a testes de susceptibilidade antimicrobiana *in vitro*. Todavia, a capacidade dum teste *in vitro* prever a eficácia clínica do antimicrobiano depende da sua correcta execução. Além disso, a falha de uma terapêutica antimicrobiana pode dever-se também a uma má escolha do agente, por exemplo, escolher um aminoglicosídeo para tratar um isolado de um exsudado purulento, uma dose e/ou frequência incorrectas, entre outras (Walker, 2008).

Idealmente a escolha dos antimicrobianos oculares deve ser feita com base da identificação dos organismos responsáveis e a sua susceptibilidade. No entanto, obter esta informação pode não se justificar tanto pelos custos como pelo facto do tratamento ter que ser instituído antes de os resultados estarem disponíveis. Deste modo, o conhecimento dos microrganismos mais prováveis e da sua susceptibilidade torna-se necessária (Slatter,

2001). Mas tratar uma infecção numa base empírica, embora prático e muitas vezes inevitável, nem sempre conduz a resultados satisfatórios. A realização de uma coloração de Gram numa citologia conjuntival ou de material intraocular é recomendada em infecções graves. O resultado em relação à presença ou ausência de bactérias, a sua morfologia e o seu comportamento perante o corante está imediatamente disponível, e com base na coloração e morfologia bacteriana, uma escolha mais racional do agente terapêutico pode ser efectuada. Além disso a citologia é também essencial nos casos em que é pouco provável que a cultura seja positiva, devido à terapia antimicrobiana já ter sido iniciada (Dowling & Kruth, 2006).

A terapia antimicrobiana ocular difere do tratamento de infecções noutros locais pois os fármacos podem ser directamente aplicados no olho, atingindo concentrações elevadas. Contudo, existe apenas um número limitado de antimicrobianos de uso tópico aprovados para a medicina veterinária, e os clínicos necessitam de fazer opções racionais. Deve evitar-se o uso de antimicrobianos para tratar condições não-infecciosas como conjuntivite alérgica ou uveíte, pois além de não terem efeito sobre o processo inflamatório, predispõe ao aparecimento de resistências (Dowling & Kruth, 2006). Em oftalmologia os antimicrobianos são usados tanto para tratar como para prevenir infecções. A maioria não penetra bem na córnea normal. O cloranfenicol, além de penetrar bem na córnea, é bacteriostático e possui um largo espectro. Os aminoglicosídeos são bactericidas, tem um espectro largo, especialmente contra bactérias Gram-negativas, mas penetram mal no epitélio intacto da córnea (Gellat, 2006). Um antimicrobiano de primeira escolha no tratamento de úlceras da córnea ou conjuntivite bacteriana, ou como profilaxia contra uma infecção superficial, é a combinação tripla de antimicrobianos. Esta contém neomicina, bacitracina e polimixina B, o que providencia um largo espectro de actuação (Dowling & Kruth, 2006).

Os antimicrobianos tópicos oculares podem ser classificados de acordo com a utilização a que se destinam em 3 tipos: primário, secundário ou terciário. Os antimicrobianos primários são usados para tratar conjuntivites bacterianas e úlceras simples da córnea. A flora bacteriana da superfície ocular é uma população mista de organismos predominantemente Gram-positivos. Assim sendo, os antimicrobianos de largo espectro incluindo antimicrobianos triplos (neomicina, plimixina B e bacitracina), gentamicina ou cloranfenicol são apropriados. Os antimicrobianos triplos e a gentamicina são bactericidas. O cloranfenicol é bacteriostático mas penetra no olho rapidamente e adquire uma elevada concentração intraocular. Os antimicrobianos de segundo nível são seleccionados para patologias específicas do segmento anterior. Um exemplo é a tetraciclina que é o antimicrobiano de escolha para as conjuntivites felinas causadas por *Mycoplasma* ou *Chlamydophila* sp.. Os antimicrobianos de nível terciário devem ser reservados para

condições infecciosas graves, incluindo úlceras da córnea colagenase-positivas e panoftalmite. Um exemplo é a tobramicina, um aminoglicosídeo que é bactericida e eficaz contra a maioria das bactérias Gram-negativas, incluindo *Pseudomonas* (Bedford & Jones, 2001).

Os antimicrobianos tópicos são usados normalmente para o tratamento de infecções bacterianas secundárias, e devem ser usados sempre que existe ulceração. É importante não usar antimicrobianos associados a corticosteróides se estiver presente ulceração. As melhoras transitórias de uma conjuntivite com uma terapêutica intermitente de antimicrobianos em pomada podem induzir a suspeita de uma QCS subjacente como etiologia primária. Em casos severos, antimicrobianos sistêmicos são usados adicionalmente (Krohne, 2005). Se a infecção persistir, apesar do tratamento antimicrobiano apropriado, a infecção pode ser secundária a um problema ou processo patológico subjacente (Slatter, 2001). A frequência de aplicação dos antimicrobianos tópicos depende da patologia e da formulação do fármaco. As infecções bacterianas da conjuntiva, córnea ou segmento anterior requerem um mínimo de 1 gota QID com soluções ou emulsões de antimicrobianos por 7 dias, ou até a infecção estar resolvida. Quando são prescritas pomadas, uma tira de 5 mm é aplicada na conjuntiva no mínimo TID até a infecção estar resolvida (Dowling & Kruth, 2006). As pomadas são contra-indicadas quando há perfuração da córnea pois elas são bastante irritantes para a úvea. A gentamicina tópica também deve ser evitada quando há perfuração da córnea pois têm sido relatados efeitos tóxicos no endotélio corneano, na retina e no epitélio ciliar quando estes tecidos estão submetidos a altas concentrações de gentamicina. As infecções bacterianas das pálpebras, órbita e úvea requerem antibioterapia sistêmica. Os antimicrobianos bactericidas que são eficazes contra bactérias aeróbias e anaeróbias são apropriados para a maioria destas infecções. Os  $\beta$ -lactâmicos, incluindo a ampicilina, amoxicilina ou cefalosporinas, estão recomendados e estão disponíveis nas formas orais, endovenosa, intra-muscular e subcutânea. O prognóstico visual está dependente do controlo precoce das infecções intra-oculares ou orbitárias. A maioria dos antimicrobianos sistêmicos vai penetrar nos tecidos intra-oculares inflamados pois a barreira hemato-ocular foi quebrada (Grahm & Wolfer, 2001).

Foi realizado um estudo sobre a eficácia de uma solução de iodo-povidona a 2% para tratamento de conjuntivite infecciosa no cão. Esta solução mostrou-se tão eficaz como a combinação neomicina-polimixina B-gramicidina no tratamento de conjuntivite bacteriana. A iodo-povidona tem um espectro antimicrobiano bastante largo, é barata e não apresenta resistências bacterianas, mostrando-se assim como uma alternativa aos antimicrobianos sobretudo no caso de existir evidência de resistência bacteriana e/ou os novos antimicrobianos serem caros ou indisponíveis (Xu-whang Shiun, Xao-Jung Lo & Ogawa-Lin, 2008).

## CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS

---

## **II.1 – Isolados bacterianos**

O presente trabalho reúne dados sobre 91 isolados bacterianos, que foram obtidos a partir de 76 canídeos com sinais de doença ocular externa aos quais se colheram zaragatoas oculares. Estas foram enviadas para análise bacteriológica no Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina Veterinária entre Janeiro de 2002 e Março de 2010. Os últimos 12 casos foram recolhidos durante o período de estágio no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária.

Uma vez que o objectivo do presente trabalho é avaliar a microbiota de cães com sinais de doença ocular externa, só se analisaram os resultados submetidos a pesquisa de organismos aeróbios.

## **II.2 – População em estudo**

A população em estudo compreendeu canídeos machos e fêmeas com sinais de doença ocular externa, cujas zaragatoas oculares foram enviadas para o Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina Veterinária. Os últimos 12 casos compreenderam 5 cães e 7 cadelas com idades entre os 2 e os 13 anos, de várias raças: Bull Terrier, Cocker Spaniel, Shi-tzu, Pug Carlin, Whippet, Cavalier King Charles Spaniel, Yorkshire Terrier, Pastor Alemão, Pequinois e de raça indeterminada.

## **II.3 – Colheita**

A colheita de material para análise bacteriológica foi feita por meio de zaragatoas estéreis friccionadas suavemente no fundo de saco conjuntival ou sobre a córnea. Tendo em conta a existência de microbiota normal na superfície ocular, evitou-se tocar inadvertidamente em tecidos ou regiões que não demonstrassem patologia evidente.

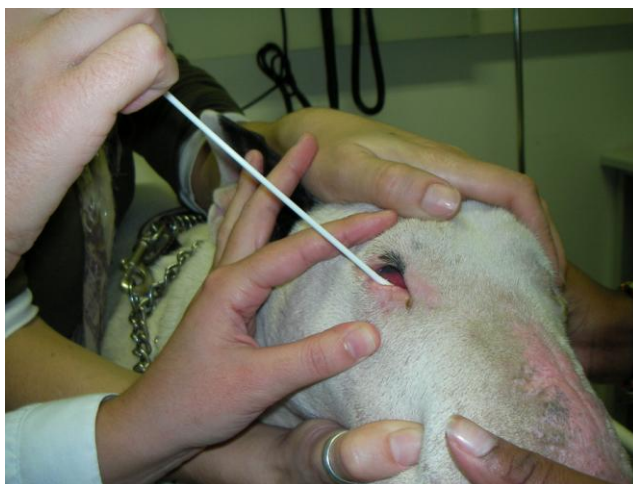
A colheita foi realizada previamente à aplicação de colírios anestésicos pois estes contêm na sua composição conservantes com propriedades antibacterianas que podem interferir com a cultura bacteriológica.

Embora a colheita deva ser feita antes da implementação de antibioterapia, nem sempre isso foi possível pois, em alguns casos, o paciente já se encontrava medicado. As amostras foram processadas de imediato ou, quando tal não foi possível, foram conservadas refrigeradas a 4°C até à sua cultura bacteriológica.



As últimas 12 colheitas foram realizadas durante o período de estágio e acompanhadas posteriormente no laboratório, sendo assim possível seguir os casos clínicos respectivos e avaliar as vantagens que o resultado da análise bacteriológica trouxe para os mesmos. Nestes casos, foi recolhida informação através da anamnese e do exame oftalmológico, a qual foi registada numa ficha oftalmológica (Anexo 2). O exame oftalmológico englobou a avaliação da visão, o exame ocular à distância, o teste dos reflexos oculares, o teste de Schirmer para avaliação da produção lacrimal, a avaliação da pressão intraocular (PIO) e oftalmoscopia directa e indirecta para estudo do interior e do fundo do olho. A colheita de amostras para análise bacteriológica (Fig. 5) foi realizada após a realização do teste de Schirmer (Fig. 6) e antes da medição do PIO, a qual requer a aplicação de anestésico tópico. Em certos casos foi realizado o teste da fluoresceína para avaliar a integridade do epitélio corneano, e assim aferir sobre a existência de úlceras. Foram realizadas ainda algumas colheitas de amostras para citologia.

**Fig.5 – Colheita de amostras bacterianas (Original).**



**Fig. 6 – Realização do Teste de Schirmer (Original).**



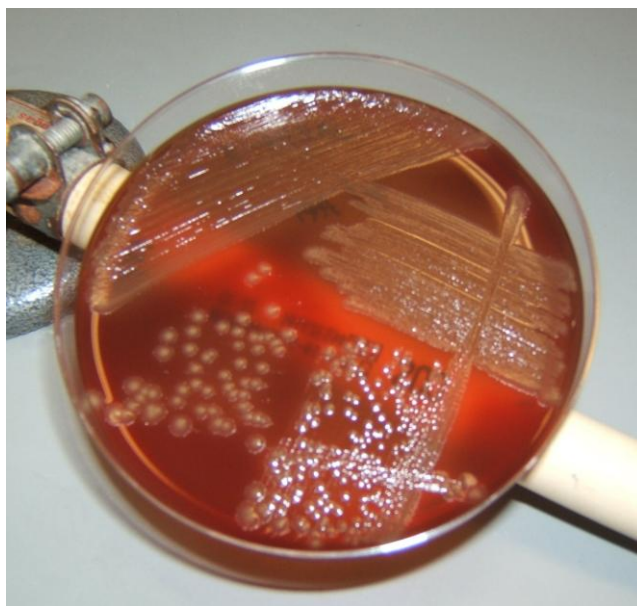
## II.4 – Cultura

As amostras foram semeadas por estria em placas de Agar Mac Conckey (MCK, BioMérieux), Agar Columbia com 5% de sangue de carneiro incorporado (COS, BioMérieux) e por incorporação em caldo de enriquecimento (Brain Heart Infusion Broth, BHIB, Liofilchem), e incubadas em atmosfera de aerobiose, a 37°C durante 24h a 48h.

Após observação e caracterização do crescimento bacteriano, foi feito o isolamento das colónias suspeitas para meio COS, sendo as placas incubadas em atmosfera de aerobiose a 37°C durante 24h a 48h.

Observaram-se depois os isolados quanto a características morfológicas e quanto a pureza das culturas. Caso não fosse observado desenvolvimento bacteriano nas placas, as culturas em meio líquido foram propagadas para COS e incubadas como anteriormente descrito, antes de se considerarem negativas.

**Fig. 7 – Imagem de uma cultura bacteriana (Original)**



## II.5 – Testes

Conforme as características macro e microscópicas observadas, procedeu-se à realização de testes rápidos, como o teste da catalase e/ou o teste da oxidase, sendo os isolados identificados por meio de testes bioquímicos miniaturizados, nomeadamente o sistema API (BioMérieux). A leitura dos resultados efectuou-se através da utilização das bases de dados disponibilizadas pelo fabricante (APIWEB).

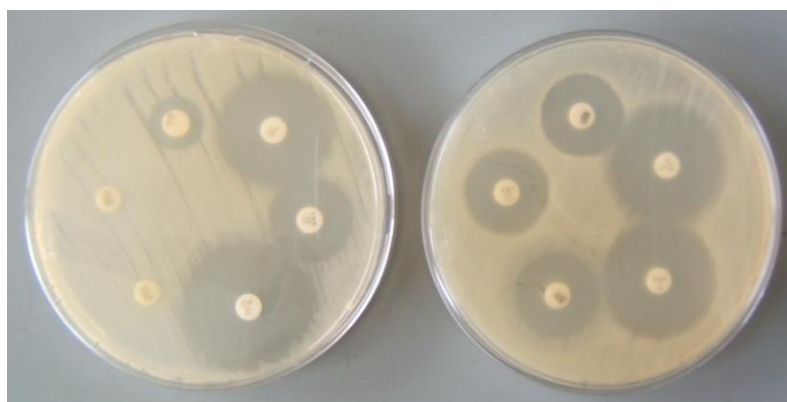
**Fig. 8 – Imagem de uma galeria API (original)**



### **II.5.1- Testes de Susceptibilidade a Agentes Antimicrobianos**

Os testes de susceptibilidade a agentes antimicrobianos foram realizados pelo método de difusão em disco, de acordo com as normas instituídas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008).

**Fig. 9 – Imagem de placas de TSA pelo método de Difusão em Disco (Original).**



#### **II.5.1.1.-Teste de Susceptibilidade a Agentes Antimicrobianos por Difusão em Disco**

Para cada isolado de bactérias de crescimento rápido, foi inicialmente efectuada uma suspensão em soro fisiológico estéril, com uma turvação correspondente ao grau 0,5 da escala de McFarland. Esta suspensão foi então inoculada à superfície de placas de meio de Muller Hinton Agar (Biokar Diagnostics), nas quais, após incubação à temperatura ambiente durante 5 minutos, foram colocados os discos impregnados de antimicrobiano (Oxoid). As placas foram incubadas em aerobiose a 37°C, durante 24h. Os isolados de microrganismos

fastidiosos (*Streptococcus* spp., *Actinomyces pyogenes* e *Corynebacterium* spp.) foram preparadas em suspensão com turvação equivalente ao grau 2 da escala de McFarland e inoculadas em meio de Müller Hinton suplementado com 5% de sangue de ovino desfibrinado (CLSI, 2008).

Após o período de incubação, as placas foram observadas, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos e os resultados interpretados de acordo com as tabelas apropriadas (CLSI, 2008). Nos casos omissos, foram adotados os limites de susceptibilidade recomendados pelos fabricantes dos discos.

Para cada tipo de amostra existe uma lista de antimicrobianos, ajustada às opções de antibioterapia possíveis (Tabela 7). De referir que nos primeiros anos a que remetem as análises não se verificava a existência de listas adequadas ao tipo de amostra. Antimicrobianos adicionais poderiam ser testados no caso de se obterem multirresistências.

**Tabela 7 – Agentes antimicrobianos a utilizar no estudo das estirpes isoladas de zaragatoas oculares.**

**Fármacos testados em zaragatoas  
oculares**

Amoxicilina + Ác. Clavulânico (AMC)

Cloranfenicol (C)

Ciprofloxacina (CIP)

Cefalexina (CL)

Gentamicina (CN)

Enrofloxacin (ENR)

Ác. Fusídico (FD)

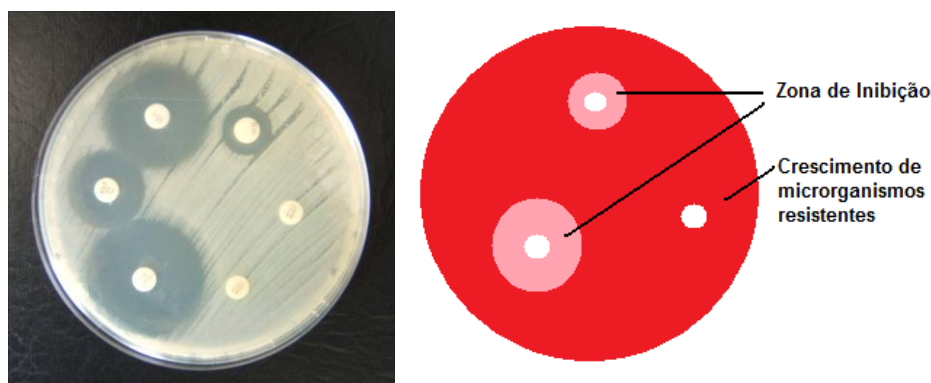
Neomicina (N)

Ofloxacin (OFX)

Tetraciclina (TE)

Tobramicina (TOB)

**Fig. 10 e 11** – Imagem de um TSA por Difusão em Disco e representação esquemática das zonas de inibição e zonas de crescimento de microrganismos, respectivamente (Originais).



Os fármacos testados foram: ácido fusídico 10 µg (FD), ácido nalidíxico 30 µg (NA), ampicilina 30 µg (AK), amoxicilina 30 µg (AML), amoxicilina/ácido clavulânico 30 µg (AMC), ampicilina 10 µg (AMP), carbenicilina 100 µg (CAR), cefalexina 30 µg (CL), cefalotina 30 µg (KF), cefazolina 30 µg (KZ), cefoperazona 75 µg (CFP), cefotaxima 30 µg (CTX), ceftazidima 30 µg (CAZ), ciprofloxacina 30 µg (CIP), clindamicina 2 µg (DA), cloranfenicol 30 µg (C), doxiciclina 30 µg (DO), enrofloxacin 5 µg (ENR), estreptomicina 10 µg (S), gentamicina 10 µg (CN), imipenem 10 µg (IPM), neomicina 5 µg (N), ofloxacina 5 µg (OFX), penicilina 10 U (P) piperacilina 100 µg (PRL), sulfametoxazole/trimetoprim 25 µg (SXT), tetraciclina 30 µg (TE), tobramicina 10 µg (TOB) produzidos pela Oxoid®.

Esta lista é mais extensa pois inclui os antimicrobianos que se usavam antigamente.

## II.6 – Casos clínicos acompanhados durante o período de estágio

**Tabela 8** – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.

<b>Caso 1 – OLDA, Bull Terrier fêmea, 11 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Queratoconjuntivite purulentas recorrentes
Processo Patológico	QCS bilateral crónica grave
Duração	Desde há vários anos
Medicações anteriores	Cloranfenicol em colírio e pomada (Clorocil ®), ciclosporina A a 2 %, tobramicina em colírio e pomada (Tobrex ®), lágrimas artificiais (Liposic ®)
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID + tobramicina (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID

**Tabela 8 (Continuação)** – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.

<b>Caso 2 – PUTCHI, Cocker Spaniel macho, 12 anos</b>	
História Clínica Oftalmológica	OD: fez exérese de neoplasia palpebral há 1 ano, ficou com pêlos a contactar com a córnea. Queratite pigmentar secundária a triquíase; OE: QCS com tecido de granulação e conjuntivite purulenta grave, olho invisual
Processo Patológico	OD: queratite pigmentar secundária a triquíase; OE: QCS com conjuntivite purulenta
Duração	Algumas semanas
Medicações anteriores	Cloranfenicol (Clorocil ®), lágrimas artificiais (Liposic ®)
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID + tobramicina (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID + amoxicilina/ác. clavulânico (clavamox ®)
<b>Caso 3 – LILI, Shi-tzu fêmea, 4 anos</b>	
História Clínica Oftalmológica	OE: Queratite ulcerativa com infecção exuberante e prolapso da íris. Correção cirúrgica com flap conjuntival. Chalazios e conjuntivites recidivantes.
Processo Patológico	Conjuntivite com corrimento mucopurulento. OE: chalázio
Duração	2 semanas
Medicações anteriores	Cloranfenicol (Clorocil ®), vitamina A (Vitaminofamina A ®)
Tratamento instituído	Cloranfenicol (Clorocil ®) TID + lágrimas artificiais (Lacryvisc ®) BID
<b>Caso 4 – BOGAS, Cocker Spaniel Americano macho, 6 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Distiquíase, esclerose senil do cristalino, estrabismo divergente do OE congénito
Processo Patológico	Corrimento bilateral purulento, QCS
Duração	2 meses
Medicações anteriores	Cloridrato de Fenilefrina (Visadron®)
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada SID + lágrimas artificiais (Liposic ®) BID

**Tabela 8 (Continuação) – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.**

<b>Caso 5 – Pocahontas, Pug Carlin fêmea, 2 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Queratite ulcerativa, distiquíase, cílios ectópicos, Meibomianite, queratite pigmentar total bilateral
Processo Patológico	Conjuntivite mucopurulenta abundante, entrópion medial
Duração	Meses
Medicações anteriores	Cloranfenicol (Clorocil ®), gentamicina (Gentocil ®), lágrimas artificiais (Liposic ®), vitamina A (vitaminofamina A ®), dexametazona + neomicina (Dexaval-o ®), diclofenaco (Voltaren ®)
Tratamento instituído	Mantém Ciclosporina A a 2% em pomada TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID
<b>Caso 6 – OCA, Whippet fêmea, 5 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Goniodisgênese bilateral, epífora, conjuntivites recorrentes desde há 3 anos, blefarite. Já tinha feito uma zaragatoa que deu negativa. Prurido ocular (conjuntivite alérgica?).
Processo Patológico	Epífora bilateral, conjuntivite com corrimento mucoso bilateral
Duração	Vários meses
Medicações anteriores	Prednisolona + Cloranfenicol (Predniftalmina ®), tobramicina (Tobrex ®)
Tratamento instituído	Lágrimas artificiais (Liposic ®) TID, Flurbiprofeno (Endolfene ®)

**Tabela 8 (Continuação)** – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.

<b>Caso 7 – AMBAR, Cavalier King Charles Spaniel fêmea, 8 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Conjuntivites recidivantes, distrofia da córnea, quistos na face interna da pálpebra, Meibomite bilateral. Resultados de zaragoas oculares anteriores: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2006), <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp. (2007), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> (2008).
Processo Patológico	Conjuntivite com corrimento mucoso
Duração	3 semanas (Dona pôs Gentocil ®, melhorou mas o corimento continua)
Medicações anteriores	Gentamicina (Gentocil ®), lágrimas artificiais (Liposic ®), Prednisolona + Cloranfenicol (Predniftalmina ®), tobramicina (Tobrex ®)
Tratamento instituído	Lágrimas artificiais (Liposic ®) BID, gentamicina (Gentocil ®) TID
<b>Caso 8 – MIKE, sem raça definida, macho, 6 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Sem problemas anteriores
Processo Patológico	Conjuntivite no OE, corrimento seroso
Duração	1 semana
Medicações anteriores	Não fez.
Tratamento instituído	Cloranfenicol (Clorocil ®) pomada TID 6 dias



**Tabela 8 (Continuação)** – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.

<b>Caso 9 – LASSIE, Shi Tzu fêmea, 13 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Desde há 2 anos que tem conjuntivites crónicas, dona refere que desde essa altura que não tem visão.
Processo Patológico	OD – Buftalmia com tecido de granulação; OE – queratite pigmentar; blefarite, corrimento mucopurulento bilateral; prurido ocular, blefarospasmo, QCS.
Duração	Semanas (tem vindo a progredir)
Medicações anteriores	Cloranfenicol (Clorocil ®), lágrimas artificiais (Liposic ®)
Tratamento instituído	Tobramicina colírio q2h e pomada à noite (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais TID (Liposic ®), tramadol (Tramal ®), enrofloxacina (Baytril ®), carprofeno (Rimadyl ®). Cirurgia de enucleação do OD.
<b>Caso 10 – MINNIE, Yorkshire Terrier fêmea, 5 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	QCS
Processo Patológico	QCS com corrimento purulento bilateral, blefarospasmo intenso; OE – úlcera estromal profunda com uveíte.
Duração	5 meses
Medicações anteriores	Prednisolona + Cloranfenicol (Predniftalmina ®), lágrimas artificiais (Liposic ®), Cloranfenicol (Clorocil ®), ciclosporina 0,2% (Optimune ®), pilocarpina (Pilocarcil ®)
Tratamento instituído	OE: Tobramicina colírio hora a hora e pomana à noite (Tobrex ®), acetilcisteína (Tirocular ®); OD: tobramicina pomada TID (Tobrex ®), ciclosporina 0,2% (Optimune ®), lágrimas artificiais (Liposic ®)

**Tabela 8 (Continuação)** – Informação sobre os casos clínicos acompanhados durante o estágio curricular.

<b>Caso 11 – BLITZ, Pastor Alemão macho, 10 anos</b>	
História Clínica Oftalmológica	Tecido de granulação, queratite pigmentar, conjuntivite e episclerite
Processo Patológico	<i>Pannus</i> em estado avançado
Duração	Meses (tem progredido)
Medicações anteriores	(não há informação)
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID, Prednisolona + Cloranfenicol BID (Prednifalmina®), prednisolona (Lepicortinolo 20 mg®) um comprimido <i>per os</i> BID 8 dias, depois um comprimido SID 8 dias e por fim um comprimido QUOD 8 dias
<b>Caso 12 – NININHO, Pequeno macho, 14 anos.</b>	
História Clínica Oftalmológica	Uveítes, queratites, iridociclites, úlcera no OE em 2006; zaragatoa ocular em 2006 revelou <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente a NA e CIP.
Processo Patológico	QCS no OE; OD com úlcera e grande infecção, neovascularização e edema da córnea. Corrimento mucopurulento.
Duração	3 semanas
Medicações anteriores	Cloranfenicol em colírio e pomada (Clorocil ®), tobramicina em colírio e pomada (Tobrex ®), lágrimas artificiais (Liposic ®, Lacriforte ®, Vidisic ®), vitamina A (vitaminofamina A ®), gentamicina (Gentocil ®), acetilcisteína (Tirocular ®), Flurbiprofeno (Endolfene ®), Dexametasona + Neomicina (Dexaval-o ®). Agora neste episódio estava a aplicar cloranfenicol.
Tratamento instituído	Enrofloxacin (Baytril ®), carprofeno (Rimadyl ®) tropicamida 1% (Tropicil ®) + soro autólogo de 2 em 2h no OD + tobramicina em colírio (Tobrex ®) q2h.

## **II.7 – Análise estatística**

A análise estatística dos resultados foi efectuada com recurso ao programa *Excel* 2007 do *Microsoft Office®* (Microsoft Corporation, EUA).



## CAPÍTULO III – RESULTADOS

---

### III.1 – Isolados bacterianos

Dos 76 animais aos quais foram efectuadas zaragatoas oculares e conjuntivais, no período Janeiro de 2002 a Março de 2010, foram obtidos 91 isolados. A maioria dos isolados era bactérias Gram-positivas (76,9%), sendo o género predominante *Staphylococcus* sp. (45%), seguido por *Streptococcus* sp. (23%). As espécies mais frequentes foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*, numa percentagem equitativa de 13,2%. De entre as bactérias Gram-negativas, o género mais frequentemente isolado foi *Pseudomonas* sp. (9,9%), e dentro deste, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (6,6%). Outro género que surgiu com alguma frequência (6,6%) foi *Corynebacterium* sp., que compreende bacilos Gram positivos.

**Tabela 9 – Isolados bacterianos em estudo (Número e %).**

Isolado	Nº	%
<i>Veillonella</i> sp.	1	1,1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1	1,1
<i>C. ulcerans</i>	1	1,1
<i>Corynebacterium</i> sp.	6	6,6
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	1,1
<i>E. coli</i>	1	1,1
<i>Enterobacter</i> sp.	1	1,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2,2
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6,6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	2,2
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	1,1
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1	1,1
<i>Pasteurella</i> sp.	2	2,2
<i>Pasteurella multocida</i>	1	1,1
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	12	13,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	13,2
<i>Staphylococcus <math>\beta</math>-hemolítico</i>	1	1,1
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	1,1
<i>Staphylococcus</i> sp.	8	8,8
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	4	4,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ,	1	1,1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,1

<i>Staphylococcus simulans</i>	1	1,1
--------------------------------	---	-----

**Tabela 9 (Continuação) –** Isolados bacterianos em estudo (Número e %).

<i>Streptococcus canis</i>	12	13,2
<i>Streptococcus</i> sp.	6	6,6
<i>Streptococcus mitis</i>	1	1,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,1
<i>Aerococcus viridans</i>	1	1,1
<b>TOTAL</b>	<b>91</b>	<b>100</b>

**Tabela 10 –** Resultados das análises bacteriológicas das zaragatoas oculares efectuadas aos casos clínicos acompanhados durante o estágio.

<b>Caso 1 - OLDA</b>	
Processo Patológico	QCS bilateral crónica grave
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID + tobramicina (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID
Bactéria Isolada	<i>Streptococcus</i> sp. resistente a: CIP, ENR, FD, N, OFX, TE, TOB
Resposta ao tratamento	Não foi possível seguir o caso pois a cadela não voltou para a consulta de seguimento.
<b>Caso 2 - PUTCHI</b>	
Processo Patológico	OD: Queratite pigmentar; OE: QCS com conjuntivite purulenta grave
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID + tobramicina (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID + amoxicilina/ác. clavulânico (Clavamox ®)
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus</i> sp. sem resistências no TSA
Resposta ao tratamento	Boa resposta à terapêutica. O OE já não tem infecção
<b>Caso 3 - LILI</b>	
Processo Patológico	Conjuntivite purulenta. OE: chalazio
Tratamento instituído	Cloranfenicol (Clorocil ®) TID + lágrimas artificiais (Lacryvisc ®) BID
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a: FD e TE; e <i>Streptococcus canis</i> resistente a: CIP, ENR, FD, N, TE, TOB

Resposta ao tratamento	Boa
------------------------	-----

**Tabela 10 (Continuação) – Resultados das análises bacteriológicas das zaragatoas oculares efectuadas aos casos clínicos acompanhados durante o estágio.**

<b>Caso 4 - BOGAS</b>	
Processo Patológico	QCS
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada SID + lágrimas artificiais (Liposic ®) BID
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a: ENR, N, TOB; e <i>Corynebacterium sp.</i> resistente a: CIP, ENR, OFX
Resposta ao tratamento	(Desconhecida)
<b>Caso 5 – POCAHONTAS</b>	
Processo Patológico	Conjuntivite mucopurulenta abundante, entrópion medial
Tratamento instituído	Mantém Ciclosporina A a 2% em pomada TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID
Bactéria Isolada	Em 28-1-2010 → <i>Streptococcus canis</i> resistente a: ENR, FD, N, TE; em 19-3-2010 → <i>Streptococcus canis</i> resistente a FD, N, TE, TOB; e <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a C, N, TE.
Resposta ao tratamento	Melhorou um pouco
<b>Caso 6 – OCA</b>	
Processo Patológico	Conjuntivite mucopurulenta abundante, entrópion medial
Tratamento instituído	lágrimas artificiais (Liposic ®) TID, Flurbiprofeno (Endolfene ®)
Bactéria Isolada	Negativa
Resposta ao tratamento	Não melhorou
<b>Caso 7 – AMBAR</b>	
Processo Patológico	Conjuntivite com corrimento mucoso
Tratamento instituído	lágrimas artificiais (Liposic ®) BID, gentamicina (Gentocil ®) TID
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a: CIP, CN, ENR, N, OFX, TE, TOB
Resposta ao tratamento	Piorou. Grande quantidade de corrimento ocular
<b>Caso 8 – MIKE</b>	
Processo Patológico	Conjuntivite no OE
Tratamento instituído	Cloranfenicol (Clorocil ®) pomada TID 6 dias
Bactéria Isolada	Negativa
Resposta ao tratamento	Melhorou



**Tabela 10 (Continuação) – Resultados das análises bacteriológicas das zaragatoas oculares efectuadas aos casos clínicos acompanhados durante o estágio.**

<b>Caso 9 – LASSIE</b>	
Processo Patológico	OD – Buftalmia com tecido de granulação; OE – queratite pigmentar; blefarite, corrimento purulento bilateral
Tratamento instituído	Tobramicina colírio q2h e pomada à noite (Tobrex ®) TID + lágrimas artificiais (Liposic ®) TID, tramadol, enrofloxacin (Baytril®), carprofeno (Rimadyl®). Cirurgia de enucleação do OD.
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a: ENR, N; <i>Streptococcus canis</i> resistente a: C, CIP, ENR, FD, N, TE, TOB.
Resposta ao tratamento	Melhorou. Pálpebras do olho enucleado ainda inflamadas e com secreção (manter enrofloxacin, carprofeno e tobramicina, lavar com solução iodada diluída); OE - ciclosporina A a 2% em pomada BID + lágrimas artificiais (Liposic ®) BID + tobramicina (Tobrex ®) (21 dias)
<b>Caso 10 – MINNIE</b>	
Processo Patológico	QCS com corrimento purulento bilateral, blefarospasmo intenso; OE – úlcera estromal profunda e uveíte associada.
Tratamento instituído	OE – Tobramicina colírio hora a hora e pomada à noite (Tobrex ®), acetilcisteína (Tirocular ®); OD – tobramicina TID (Tobrex ®), ciclosporina 0,2% (Optimune ®), lágrimas artificiais (Liposic ®)
Bactéria Isolada	<i>Staphylococcus epidermidis</i> resistente a: FD, N, TOB. <i>Staphylococcus auricularis</i> resistente a FD, N, TE, TOB.
Resposta ao tratamento	A infecção foi diminuindo mas depois recidivou. Após os resultados da cultura e TSA alterou-se o AB para cloranfenicol.
<b>Caso 11 – BLITZ</b>	
Processo Patológico	Pannus
Tratamento instituído	Ciclosporina A a 2% em pomada BID, prednisolona + cloranfenicol BID (Prednifalmina ®), Prednisolona oral
Bactéria Isolada	Negativa
Resposta ao tratamento	Melhorou

**Tabela 10 (Continuação) – Resultados das análises bacteriológicas das zaragatoas oculares efectuadas aos casos clínicos acompanhados durante o estágio.**

<b>Caso 12 – NININHO</b>	
Processo Patológico	QCS no OE; OD com úlcera e grande infecção, neovascularização e edema da córnea. Corrimento mucopurulento.
Tratamento instituído	Enrofloxacina (Baytril®), carprofeno (Rimadyl®) tropicamida 1% (Tropicil ®) + soro autólogo de 2 em 2h no OD + tobramicina em colírio (Tobrex®) q2h.
Bactéria Isolada	Negativa
Resposta ao tratamento	Melhorou

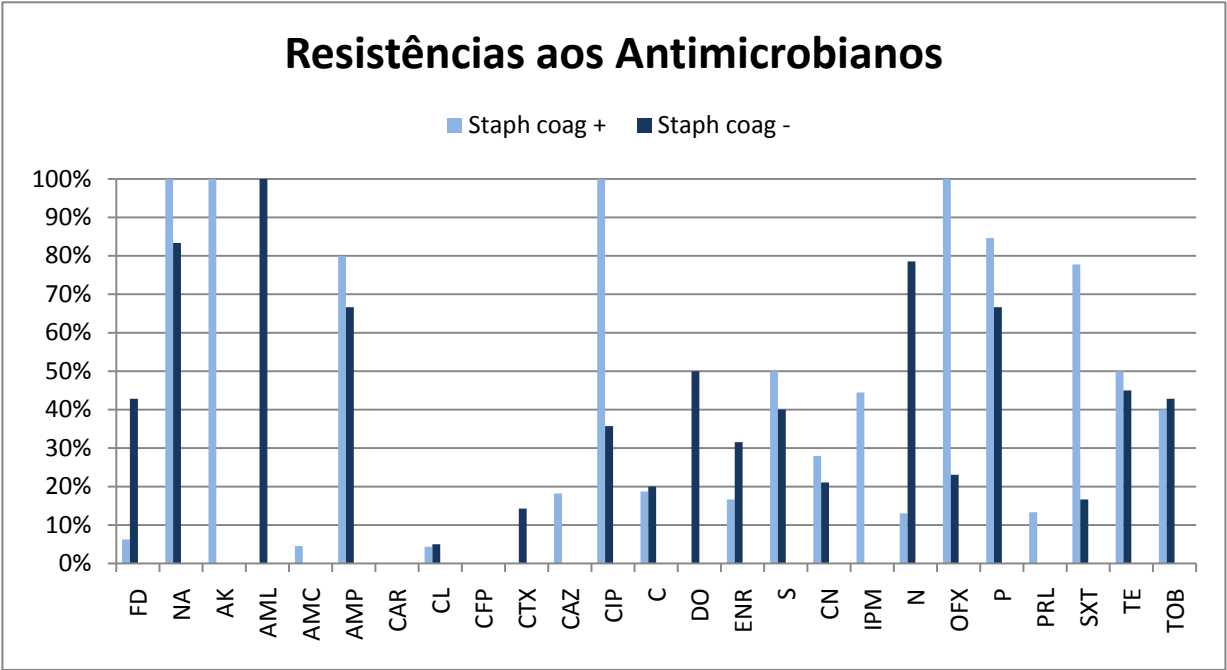
### III.2 – Testes de Susceptibilidade a Agentes Antimicrobianos

Em relação aos TSA, os resultados descritos como de susceptibilidade “intermédia”, foram aqui considerados como resistentes, tanto para efeitos estatísticos como de selecção de terapêutica.

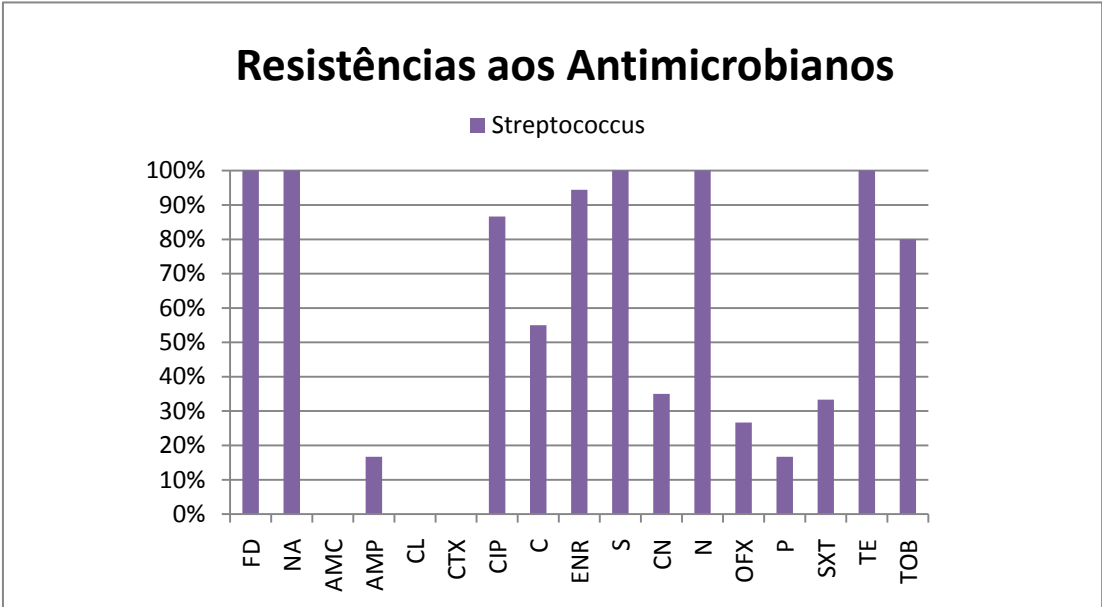
Foi observada resistência a pelo menos um fármaco em 93,5% dos isolados. Todos os staphylococci coagulase positivos testados se revelaram resistentes aos princípios activos amicacina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina e ofloxacina. Todos os staphylococci coagulase negativos evidenciaram resistência à associação amoxicilina/ácido clavulânico (Gráfico 1). O género *Streptococcus* sp. mostrou resistências ao ácido fusídico, ao ácido nalidíxico, à estreptomina, à neomicina e à tetraciclina (Gráfico 2).

O género *Pasteurella* sp. (4,4%) apresentou resistências à ciprofloxacina, piperacilina e tobramicina. Oito fármacos (32%) revelaram-se ineficazes contra o género *Pseudomonas* sp., tendo este apresentado total susceptibilidade à ciprofloxacina e à piperacilina (Gráfico 3).

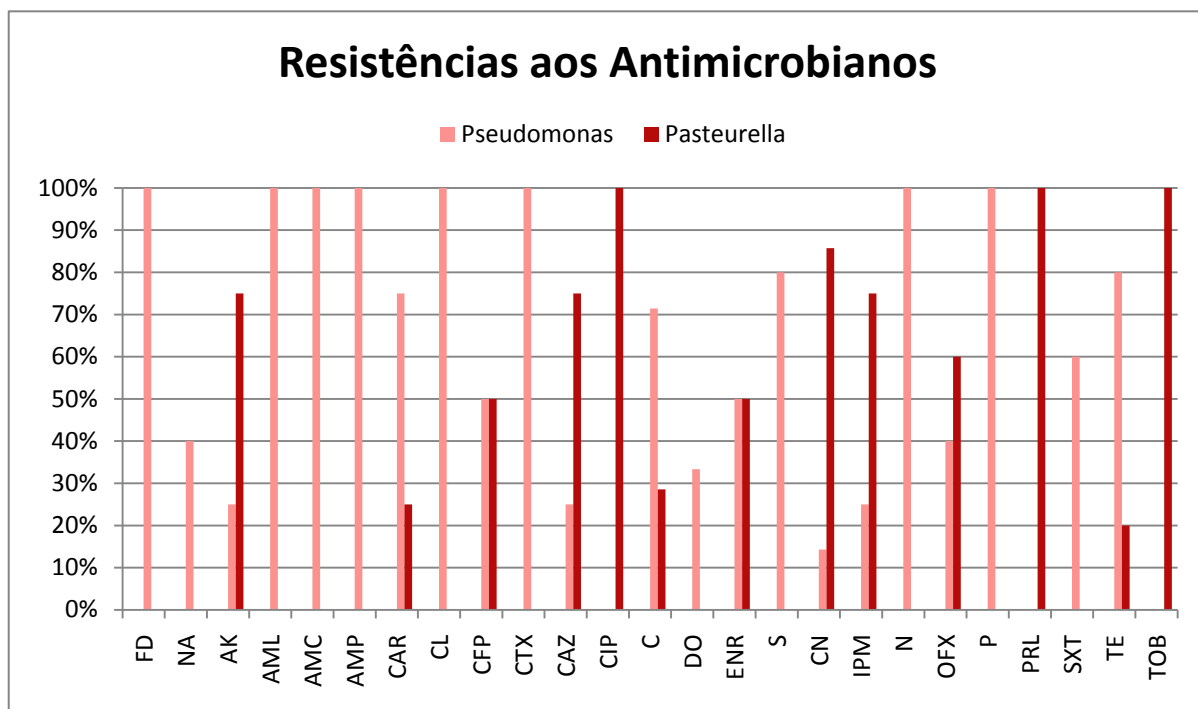
**Gráfico 1 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelos staphylococci coagulase positivos e staphylococci coagulase negativos isolados.**



**Gráfico 2 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelas bactérias do género *Streptococcus*.**



**Gráfico 3 – Resistências aos antimicrobianos evidenciadas pelas bactérias Gram-negativas mais frequentes (géneros *Pseudomonas* e *Pasteurella*).**



## CAPÍTULO IV – DISCUSSÃO

---

#### IV.1 – Isolados bacterianos

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com a literatura disponível (Gerding & Kakoma 1990; Slatter, 2001; Andrade et al., 2002; Prado et al., 2005; Tolar et al., 2006; Wang et al., 2008). O género que predominou foi *Staphylococcus* sp. (45%), seguido por *Streptococcus* sp. (23%). As espécies isoladas com maior frequência foram *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis* (13,2%). De entre as bactérias Gram-negativas, o género mais frequentemente isolado foi *Pseudomonas* sp. (9,9%) e, dentro deste, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (6,6%). A variação na frequência de isolamento de alguns géneros e/ou espécies bacterianas relaciona-se com diversos factores que afectam a prevalência individual de determinados microrganismos. Estes incluem o clima e a localização geográfica, a estação do ano, o ambiente em que o animal vive e as técnicas de colheita e cultura das amostras (Grahns, 2004; Galle & Moore 2007; Petersen-Jones & Crispin 2008). Contudo, todos os estudos parecem estar de acordo no que se refere à predominância de bactérias Gram-positivas, e este trabalho descreve-as numa percentagem de 76,9% (Whitley, 2000; Solari et al., 2004; Prado et al., 2005; Tolar et al., 2006; Winn et al., 2006).

Tal como observado por Gerding (1988) e Murphy (1978), os isolados mais comuns foram *Staphylococcus* spp. (45%) e *Streptococcus* spp. (23%). Diversos estudos de outros países, também relatam o género *Staphylococcus* sp. como o mais frequente, com percentagens variando entre 33% e 58% (Armstrong, 2000; Tolar, et al., 2006; Kudirkienė, Žilinskas & Šiugždaitė, 2006; Wang et al., 2008). Staphylococi coagulase-positivos (25%) constituem o grupo de microrganismos mais predominante, o que foi igualmente constatado pelos estudos de Murphy, Lavach & Severin (1978); Gerding, McLaughlin & Troop (1988); Armstrong (2000); Wang et al. (2008); e Varges, Penna, Martins, Martins & Lilenbaum (2009). Os nossos resultados revelam ainda que as espécies isoladas com maior frequência (13,2%) são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*. Neste parâmetro os estudos não são unânimes, o que se deve aos factores anteriormente referidos, não só o ambiente externo ao animal, a localização geográfica e o clima, mas igualmente as características inerentes ao próprio animal, particularmente a raça, a idade e o sexo, e as técnicas de colheita e processamento das amostras (Andrade, 2002; Grahns, 2004; Galle & Moore 2007; Petersen-Jones & Crispin 2008).

Em relação às bactérias Gram-negativas, o género *Pseudomonas* spp. (9,9%) foi o mais frequente. O mesmo foi verificado por Gerding et al., (1988) e Kudirkienė et al., (2006). Este género é conhecido pela sua resistência a vários agentes antimicrobianos e por ser um agente patogénico particularmente perigoso, tanto para os animais como para o Homem. Pode colonizar o epitélio ocular e, assim que as defesas locais fiquem comprometidas de alguma maneira, a bactéria pode proliferar rapidamente através da produção de enzimas

extracelulares como elastase, protease alcalina e exotoxina A, e causar uma lesão rapidamente destrutiva (queratomalácia) que pode levar à perfuração e perda do globo ocular dentro de 24 horas. É considerada uma emergência oftalmológica e a terapia deve ser iniciada de imediato, utilizando antimicrobianos eficazes contra este género bacteriano, nomeadamente gentamicina, ciprofloxacina ou penicilinas de espectro alargado, além de outros agentes terapêuticos (Papich, 2001; Barnett et al., 2002; Bjerk, 2004; Stanley, 2007).

Em relação aos casos acompanhados durante o estágio constatou-se o seguinte:

No caso 1, a cadela apresentava QCS bilateral crónica grave. A espécie bacteriana isolada (*Streptococcus* sp.) já apresentava resistências face ao antimicrobiano instituído (tobramicina), o que leva a suspeitar que o tratamento não iria ser eficaz. Todavia não foi possível observar a evolução do caso pois a cadela não se apresentou à consulta de seguimento.

No caso 2, o cão evidenciava uma QCS com conjuntivite purulenta grave no olho esquerdo. Foi isolado *Staphylococcus* sp. sem resistências no TSA e, como era de esperar, houve uma boa resposta ao tratamento instituído e o olho já não apresentava infecção na consulta de seguimento.

Em relação ao caso 3, a cadela apresentava um chalazio no olho esquerdo, que foi drenado, procedendo-se depois à cultura da sua secreção. Foi isolado *Staphylococcus aureus* resistente ao ácido fusídico e tetraciclina; e *Streptococcus canis* resistente a ciprofloxacina, enrofloxacin, ácido fusídico, neomicina, tetraciclina, tobramicina. Uma vez que o antimicrobiano prescrito foi o cloranfenicol, houve boa resposta ao tratamento. Evidencio a correcta abordagem do clínico oftalmologista que, como primeira abordagem, prescreveu um antimicrobiano de primeira linha. Um clínico menos experiente que tivesse prescrito tobramicina por pensar que seria mais eficaz, uma vez que é um antimicrobiano de segunda escolha, provavelmente iria ficar desiludido com os resultados. No caso 2 era justificável optar inicialmente pela tobramicina pois a situação era de maior gravidade.

O caso 4 era mais um caso de QCS, apresentando corrimento purulento bilateral. A cultura e TSA evidenciaram a presença de *Staphylococcus aureus* resistente a enrofloxacin, neomicina e tobramicina, e *Corynebacterium* sp. resistente a ciprofloxacina, enrofloxacin, ofloxacin. Não se prescreveu nenhum antimicrobiano enquanto se aguardava o resultado da colheita microbiana e posterior TSA devido à cronicidade da doença e à necessidade do uso racional de antimicrobianos. Após o conhecimento do resultado, prescreveu-se cloranfenicol, para o qual ambas as bactérias eram sensíveis.

A cadela do caso 5 apresentou-se à consulta com conjuntivite mucopurulenta abundante e entropion medial com semanas de duração. As bactérias isoladas foram *Streptococcus canis* resistente a enrofloxacin, ácido fusídico, neomicina e tetraciclina (28-1-2010); *Streptococcus canis* resistente a ácido fusídico, neomicina, tetraciclina e tobramicina e

*Staphylococcus aureus* resistente a cloranfenicol, neomicina e tetraciclina (19-3-2010). Tratou-se apenas a QCS subjacente com ciclosporina A e lágrimas artificiais. A cadela melhorou um pouco. Na QCS existe grande probabilidade de contaminação bacteriana secundária por ausência do efeito protector da lágrima, que além de possuir substâncias antimicrobianas e imunoglobulinas, evita a adesão dos microrganismos à superfície ocular e tem uma acção de lavagem, removendo substâncias estranhas (Petersen-Jones et al., 2001). Os antimicrobianos são prescritos para controlar ou prevenir infecções locais e recomenda-se o uso de antimicrobianos de largo espectro BID (Gellat, 2006). Não se optou logo por prescrever um antimicrobiano pois a cadela poderia conseguir debelar a infecção tratando as causas subjacentes e, caso o antimicrobiano fosse necessário, já se poderia fazer uma opção mais racional com os resultados laboratoriais.

No caso 6 a cadela apresentava epífora bilateral e conjuntivite com corrimento mucoso bilateral há vários meses. Desde há 3 anos que a cadela tinha tido conjuntivites recorrentes, normalmente apenas acompanhadas de epífora e blefarite, e já tinha feito uma zaragatoa que deu negativa. Realizou-se nova zaragatoa que se revelou igualmente negativa. A forte suspeita de conjuntivite alérgica - pois também havia história de prurido ocular - levou à realização de um teste de provocação conjuntival que deu positivo para o ácaro do pó *Dermatophagoides farinae*. Foi-lhe então prescrito Dexaval-o® (Dexametasona + Neomicina). O facto de esta cadela apresentar um ligeiro entrópion medial também é uma causa predisponente para as conjuntivites.

Em relação ao caso 7 a cadela apresentava conjuntivite com corrimento mucoso desde há 3 semanas e a dona aplicou gentamicina (Gentocil®). Melhorou mas o corrimento continuou. Foi feita uma zaragatoa ocular pois a cadela tinha história de conjuntivites recidivantes e infecções por *Pseudomonas* spp. em anos anteriores. Manteve-se a gentamicina e prescreveu-se ainda lágrimas artificiais. Enquanto se aguardavam os resultados das análises a conjuntivite foi piorando. A cultura e TSA revelaram a presença de *Staphylococcus aureus* resistente a ciprofloxacina, gentamicina, enrofloxacina, neomicina, ofloxacina, tetraciclina e tobramicina. Uma vez que a bactéria isolada se revelou resistente à gentamicina, alterou-se o tratamento para cloranfenicol (Clorocil®) TID + ácido fusídico (Fucithalmic®) TID tópicos oculares + Cefuroxima (Zoref®) oral durante 14 dias + omeprazol. Note-se que estamos perante o caso de uma infecção causada por uma bactéria multirresistente.

O caso 8 é um caso simples em que o cão apresenta conjuntivite no OE com corrimento seroso há uma semana. Não há história de problemas oftalmológicos anteriores. Decidiu-se fazer a zaragatoa para confirmar que não há grande necessidade de fazer esta análise em casos de uma única infecção conjuntival, pois é provável que o resultado venha negativo. Apesar de existir microbiota conjuntival normal, se esta se encontrar em quantidades normais, não é suficiente para haver crescimento em cultura. Mesmo que haja crescimento



bacteriano, existe uma microbiota conjuntival normal e o seu isolamento em cultura não justifica por si só que possa ser responsável por uma conjuntivite.

Pelo contrário, o caso 9 é uma situação mais complicada. A cadela manifestava conjuntivites recorrentes desde há 2 anos e a dona referiu que desde essa altura que não tinha visão. Apresentou-se à consulta com blefarite, corrimento mucopurulento bilateral, prurido ocular, blefarospasmo, QCS, buftalmia com tecido de granulação no olho direito e queratite pigmentar no olho esquerdo. Os sinais tinham vindo a progredir desde há semanas. Foi prescrito o seguinte tratamento: Tobramicina colírio q2h e pomada à noite (Tobrex®) TID + lágrimas artificiais TID (Liposic®), tramadol (Tramal®) para controlo da dor, enrofloxacin (Baytril®), carprofeno (Rimadyl®); e cirurgia de enucleação do OD. As zaragatoas efectuadas evidenciaram a presença de *Staphylococcus aureus* resistente a enrofloxacin e neomicina, e *Streptococcus canis* resistente a cloranfenicol, ciprofloxacina, enrofloxacin, ácido fusídico, neomicina, tetraciclina e tobramicina. Nas consultas de seguimento verificaram-se melhoras progressivas. Embora uma das bactérias tenha apresentado resistência à tobramicina no TSA, é de lembrar que os resultados obtidos pelos testes *in vitro* podem não ser aplicáveis ao uso do antimicrobiano *in vivo*, pois existe uma variedade de factores associados ao agente antimicrobiano, ao hospedeiro ou ao agente patogénico, que não são reproduzíveis no laboratório (Walker, 2008). Não foi alterado o agente antimicrobiano (tobramicina) pois efectivamente a infecção ocular da cadela estava a ser debelada.

O caso 10 é mais um caso de QCS com corrimento purulento bilateral, e ainda uma úlcera estromal profunda com uveíte no olho esquerdo. O processo arrastava-se há 5 meses. Os resultados das análises demonstraram a presença de *Staphylococcus epidermidis* resistente a ácido fusídico, neomicina e tobramicina, e *Staphylococcus auricularis* resistente a ácido fusídico, neomicina, tetraciclina e tobramicina. A infecção foi diminuindo mas depois recidivou. Após se obterem os resultados da cultura e TSA alterou-se o antimicrobiano para cloranfenicol, pois as bactérias apresentaram resistência à tobramicina.

O Caso 11 é uma situação de *Pannus* em estado avançado. Não há indicação para realização de cultura e TSA nestes casos, mas realizou-se a zaragatoa para ver se havia crescimento, mesmo que fosse da microbiota normal. Tal não aconteceu.

No caso 12, o cão apresentava QCS no olho esquerdo e úlcera com grande infecção no olho direito. O corrimento era mucopurulento, que é sinal de conjuntivite bacteriana, no entanto a zaragatoa apresentou um resultado negativo. Neste caso, como já se estava a aplicar um antimicrobiano (cloranfenicol) não houve crescimento bacteriano aquando da realização da cultura (Dowling & Kruth, 2006). No entanto, se o microrganismo for resistente a esse antimicrobiano haverá crescimento, como ocorreu no caso 10. O tratamento prescrito foi eficaz e o animal evoluiu favoravelmente.

Em suma, apurou-se que os casos de conjuntivite crónica estavam associados a estirpes bacterianas com multiresistências (casos 4, 5, 7, 9, 10). Estes casos de infecção ocular crónica estão muitas vezes associados a uma QCS subjacente. Nas culturas em que se isolou *Streptococcus* sp., sobretudo *Streptococcus canis*, os respectivos TSA evidenciaram resistências pelo menos a 4 agentes antimicrobianos.

Quando as bactérias isoladas eram susceptíveis ao tratamento instituído na altura da consulta, verificava-se melhoria do processo patológico e mesmo resolução, como aconteceu nos casos 2 e 3. Caso a bactéria isolada se revelasse resistente ao antimicrobiano instituído, as melhoras seriam pouco prováveis e o processo patológico corria o risco de piorar (casos 1, 7 e 10) e a terapêutica era alterada.

Em casos de conjuntivite que não apresentem corrimento purulento e não sejam casos crónicos, não se justifica realizar cultura e TSA pois o resultado será presumivelmente negativo (casos 8 e 11). Todavia, se houver crescimento bacteriano será provavelmente de uma bactéria da microbiota conjuntival normal.

Em 7 casos de conjuntivite purulenta, 5 deles evidenciavam QCS e os outros 2 entrópion medial, o que está de acordo com o conhecimento de que a conjuntivite canina é na maioria das vezes um problema secundário a uma causa predisponente (Bedford & Jones, 2001; Crispin, 2005; Rito, 2009).

Como já foi atrás referido, quando os cães apresentam conjuntivite grave ou uma conjuntivite crónica que não respondeu ao tratamento inicial, deve ser realizada uma pesquisa bacteriológica. (Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001) A cultura bacteriana não deve ser o procedimento inicial quando se determina a causa da conjuntivite, uma vez que vai provavelmente revelar um organismo presente na microbiota conjuntival normal, ou um agente patogénico comum. O insucesso da resposta de uma conjuntivite a uma terapia antimicrobiana geralmente resulta da falha na determinação da etiologia, e não duma escolha incorrecta do antimicrobiano.

Várias causas de conjuntivite resultam no sobrecrecimento da microbiota normal, ou no crescimento de agentes patogénicos comuns, portanto a causa da conjuntivite não deve ser atribuída às bactérias isoladamente. O sucesso do tratamento depende portanto da identificação e remoção da causa subjacente (Slatter, 2001; Petersen-Jones, Stanley, Smith & Smith, 2001).

Ao contrário dos gatos, em que a maioria das conjuntivites são primárias, no cão a maioria das conjuntivites infecciosas são secundárias a uma causa subjacente. A conjuntivite bacteriana primária no cão é rara, e geralmente ocorre secundariamente à diminuição da produção lacrimal. Em cerca de 70 a 90% dos cães normais podem ser cultivadas bactérias do saco conjuntival, sendo que *Staphylococcus* sp. e outros Gram-positivos são os organismos mais comuns. No que se refere às conjuntivites secundárias no cão, as mais

fequentes são a conjuntivite folicular, por deficiência lacrimal e a conjuntivite alérgica (Crispin, 2005; Rito, 2009).

#### **IV.2 – Testes de Susceptibilidade a Antimicrobianos**

O Teste de susceptibilidade está indicado para qualquer agente patogénico bacteriano que contribua num processo infeccioso e para o qual seja requerida a intervenção de um fármaco antibacteriano. Isto é especialmente importante quando o agente etiológico é suspeito de possuir mecanismos de resistência aos fármacos antibacterianos de uso mais comum (ex. *Pseudomonas aeruginosa*), e ainda em estudos relativos à epidemiologia de resistências a fármacos antibacterianos e em estudos relacionados com novos fármacos antibacterianos (NCCLS, 2002; Weese, 2006). O tratamento prolongado com um antimicrobiano inapropriado pode resultar em sobrecrecimento de bactérias patogénicas, leveduras e fungos (Galle & Moore 2007). A cultura e a realização de TSA são portanto fundamentais para o sucesso do tratamento.

Os princípios activos mais frequentemente utilizados em terapêutica de infecções oculares externas são cloranfenicol, gentamicina, tobramicina e também tetraciclina, embora esta seja principalmente utilizada nos gatos (Bedford & Jones, 2001). O presente estudo demonstra elevadas taxas de resistência face a alguns dos princípios activos utilizados em terapêutica, designadamente tobramicina (80% para a género *Streptococcus* e 100% para o género *Pasteurella*), e tetraciclina (100% para o género *Streptococcus* e 80% para o género *Pseudomonas*). Tanto cloranfenicol como gentamicina demonstraram uma boa eficácia *in vitro* face aos agentes bacterianos isolados, o que está de acordo com a literatura. (Papich, 2001; Bedford & Jones, 2001; Crispin, 2005; Gellat, 2006).

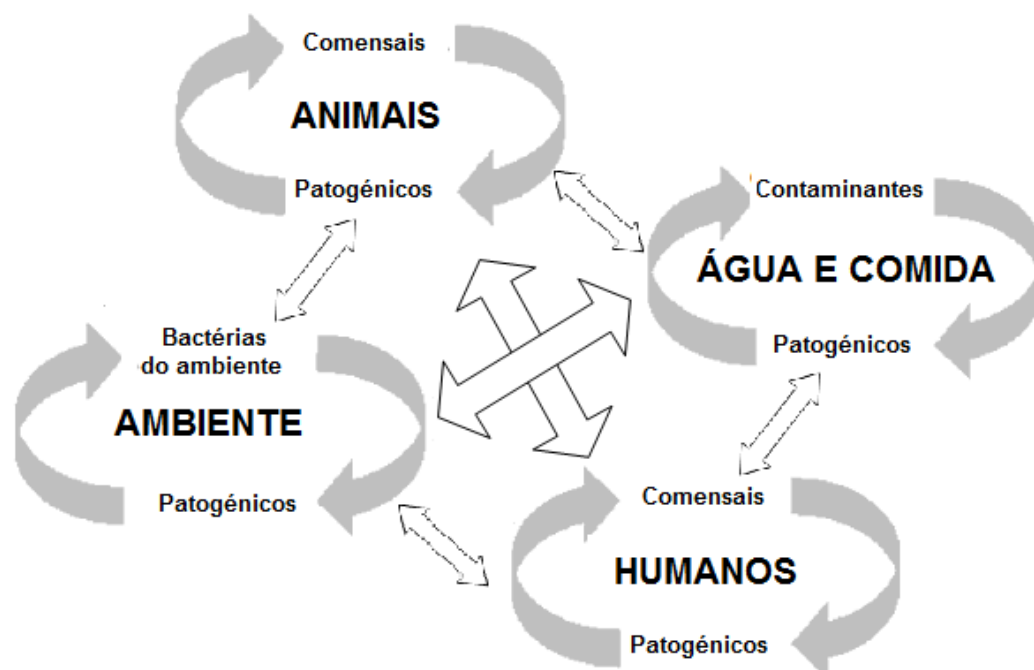
O antimicrobiano indicado na literatura como de primeira escolha é o cloranfenicol (Bedford & Jones, 2001; Gellat, 2006), que poderá ser administrado antes de se obterem os resultados da cultura e susceptibilidade. Após estes resultados considera-se manter o tratamento ou alterar o antimicrobiano caso haja evidência de resistência ou susceptibilidade intermédia no TSA. Os antimicrobianos indicados como de segunda escolha são tobramicina e gentamicina (Bedford & Jones, 2001; Gellat, 2006), habitualmente eficazes contra o género *Pseudomonas* que é tão temido devido à elevada taxa de resistências a antimicrobianos que apresenta. De facto, no nosso estudo todos os isolados deste género evidenciaram-se resistentes a oito dos agentes antimicrobianos testados: ácido fusídico, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, cefalexina, cefotaxima, neomicina e penicilina. Papich (2001) refere que as cefalosporinas de segunda e terceira geração não

são activas contra *Pseudomonas aeruginosa*, mas pode haver susceptibilidade às fluoroquinolonas, aminoglicosídeos ou penicilinas de espectro alargado como a ticarcilina ou a piperacilina. Nos resultados que obtivemos, a ciprofloxacina e a piperacilina foram 100% eficazes.

Estirpes resistentes são seleccionadas após amplo uso de um fármaco, sobretudo devido a tratamentos implementados sem prévia cultura bacteriana e TSA. É importante determinar a susceptibilidade antimicrobiana dos microrganismos patogénicos associados a doenças oculares externas, pois o uso indiscriminado de antimicrobianos para profilaxia e tratamento de infecções menores prejudica a disponibilidade de medicamentos antimicrobianos para doenças graves (Varges, Penna, Martins, Martins & Lilenbaum, 2009). A identificação de multirresistências vem reforçar a importância da realização destas análises aquando da prescrição de medicação para as doenças oculares externas de canídeos, especialmente se apresentam um carácter crónico ou exuberante. Recomendamos portanto que se trate cada caso particular de acordo com os resultados da cultura e susceptibilidade, de forma a escolher a terapêutica mais apropriada e evitar a selecção de estirpes resistentes.

É um facto preocupante que a resistência bacteriana aos antimicrobianos em medicina veterinária está a crescer mundialmente. As consequências são graves pois as infecções causadas por microrganismos resistentes não respondem ao tratamento, resultando em maior morbilidade e mortalidade (Helms et al., 2002; Travers & Barza, 2002; Varma et al., 2005). Quando os agentes antimicrobianos são usados incorrectamente, por exemplo durante um período demasiado breve, com uma dose inadequada ou por razões erradas, há oportunidade para as bactérias adquirirem mecanismos de resistência (Boerlin & White, 2006; Poeta & Rodrigues, 2008). Várias publicações científicas relatam a relação entre os antimicrobianos usados em animais e o aparecimento de resistências em estirpes bacterianas de importância em patologia humana e animal (Piddock, 1996; Witte, 1998; Torres e Zarazaga, 2002; Carneiro et al., 2007; Macedo et al., 2007). A questão das resistências aos antimicrobianos é pois uma questão de saúde pública pois não se pode esquecer que as bactérias presentes nos animais desempenham um papel como reservatórios de genes de resistência que podem causar doenças nos seres humanos (Schwarz, Kehrenberg & Walsh, 2001). Como se conhece da epidemiologia das zoonoses, as bactérias podem ser transferidas entre os animais e o Homem, entre a água e os alimentos, através de contacto directo, e através do ambiente. No desenvolvimento da resistência antimicrobiana, as bactérias trocam material genético, que inclui genes de resistência, entre cada um destes compartimentos (Fig. 13). Deste modo, o uso prudente dos agentes antimicrobianos é fundamental para proteger a saúde humana e animal, contra doenças infecciosas (Boerlin & White, 2006; Weese, 2006).

**Fig. 12** – Esquema simplificado da epidemiologia da resistência antimicrobiana (adaptado de Boerlin & White, 2006).





## CAPÍTULO VI - BIBLIOGRAFIA

---

- Andrade, A. L., Stringhini, G., Bonello, F. L., Marinho, M. & Perri, s. H. V. (2002). *Microbiota conjuntival de cães sadios da cidade de Araçatuba (SP)* Arquivos Brasileiros de Oftalmologia 2002, 65: 323-326 <http://www.ufrgs.br/actavet/37-2/art826.pdf>
- Barnett K. C., Sansom J. & Heinrich C. (2002) *Canine ophthalmology: an atlas and text*. China: W. B. Saunders. pp: 50, 51, 75, 76, 92, 93, 95, 134, 138.
- Barnett, K. (2006) *Diagnostic atlas of veterinary ophthalmology*. (2nd ed.). Spain: Mosby Elsevier. pp: 16, 35.
- Bedford, P. G. C. & Jones, R. G. (2001). Abnormal appearance. In R. L. Peiffer & S. M. Peterson-Jones (Eds.), *Small Animal Ophthalmology: a problem-oriented approach*. (3rd ed.). London: W. B. Saunders. pp. 77, 78, 83.
- Bjerk, E. (2004). *Ocular injuries in general practice*. In Proceedings of 29<sup>th</sup> WSAVA congress, Oct, 2004. Rhodes, Greece. Acedido em Abr. 17, 2010 em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2004&PID=8722&Category=1266&O=Generic>
- Boerlin P. & White, D. G. (2006). Antimicrobial resistance and its epidemiology. In S. Giguère, , Prescott, Baggot, Walker, R. D., Dowling (eds.) *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (4th Ed). pp. 21, 27-35.
- Boothe, D. M. (2001). *Small Animal Pharmacology and Therapeutics*. In Dawn Merton Boothe (Ed.), *Antimicrobial Drugs*. (pp.150). USA: W. B. Saunders Company.
- Crispin, S. M. (2005), *Notes on veterinary ophthalmology*. Índia: Blackwell Publishing. pp. 81, 92, 102-104, 119-120.
- Diagnosis and management of conjunctival disease in the dog. [versão electrónica]. In *Proceeding of the SEVC Southern European Veterinary Conference Oct. 17-19, 2008 – Barcelona, Spain*. Acedido em Março 22, 2009, em: <http://www.ivis.org/proceedings/sevc/2008/farras1.pdf>
- Dowling, P. M. & Kruth, S. A. (2006). Antimicrobial therapy of selected organ systems. In S. Giguère, Prescott, Baggot, R. D. Walker & Dowling (eds.) *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (4th Ed). pp. 363-367.
- Farras, I. (2005) Chronic corneal diseases. [versão electrónica]. In *Proceeding of the North American Veterinary Conference Jan. 8-12, 2005, Orlando, Florida*. Acedido em Fev. 27, 2008 em: <http://documenti.fondiz.it/65.pdf>
- Gelatt, K. N. (2000) *Essentials of veterinary ophthalmology*. (3.ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 595p.
- Gelatt, K. N. (2002). *New Drugs for Small Animal Ophthalmology*; Philadelphia Hanley & Belfus, Inc Medical Publishers pp. 47, 95, 125, 536
- Gerding, P. A., Jr, McLaughlin, S. A. & Troop, M. W. (1988). Pathogenic bacteria and fungi associated with external ocular diseases in dogs: 131 cases (1981-1986). *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 193(2): 242-4.
- Giguère, S., & Walker, R. D. (2006). Principles of antimicrobial drug selections and use. In S. Giguère, Prescott, Baggot, R. D. Walker & Dowling (eds.) *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (4th Ed). pp. 110, 111.



- Grahn, B. H. & Wolfer, J. (2001). Therapeutics. In R. L. Peiffer & S. M. Peterson-Jones (Eds.), *Small Animal Ophthalmology: a problem-oriented approach*. (3rd ed.). London: W. B. Saunders. pp. 43-50.
- Haghkhah, M., Sarchahi, A. & Molazem, M. (2005). Conjunctival flora in normal dogs. *Online Journal of Veterinary Research* 9 (2) :79-83. Acedido em Jun 10, 2010 em: <http://www.cpb.ouhsc.edu/ojvr/conjunctivaabs2005.htm>
- Krohne, S.G. (2005). Chronic corneal diseases. In *Proceedings of The North American Veterinary Conference Jan. 8 -12, 2005 – Orlando, Florida*. Acedido em Jun. 10, 2010 em <http://www.avis.org/proceedings/navc/2005/SAE/288.pdf?LA=1>
- Kudirkienė, E., Žilinskas, H. & Šiugždaitė J. (2006). Microbial flora of the dog eyes. *Veterinarija ir zootechnika*. 34 (56). Acedido em Março 22, 2010 em: <http://vetzoo.lva.lt/data/vols/2006/34/pdf/kudirkiene.pdf>
- Lin C.T & Petersen-Jones S. M. ( ). *Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from corneal ulcers of dogs in Taiwan 2007 May*;48(5):271-4. Epub 2007 Apr 8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17425695> abstract
- Lloyd, D. H. Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals. *Clinical Infectious Disease* 2007; 2: S148 – S152.
- Morales A., Valinhos M.A.R., Salvadego M. & Levy C.E. (2009) Microbiological and clinical aspects of corneal ulcers in dogs [abstract] [versão electrónica]. In *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA 2009*, São Paulo, Brazil, 530. Acedido em Março 22, 2010 em: <http://www.avis.org/proceedings/wsava/2009/lecture31/27.pdf?LA=1>
- Morales A., Valinhos M.A.R., Salvadego M. & Levy C.E. (2009). Microbiological and clinical aspects of corneal ulcers in dogs – 530. In *proceedings of 34th World Small Animal Veterinary Congress 2009 - São Paulo, Brazil*. Acedido em Jun. 10, 2010 em: <http://www.avis.org/proceedings/wsava/2009/lecture31/27.pdf?LA=1>
- Morris, D.O., Rook, K. A., Shofer, F. S., Rankin, S. C. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *Veterinary Dermatology*, 17(5): 332-337.
- Murphy, J. M., Lavach, J. D., Severin, G. A., (1978). Survey of conjunctival flora in dogs with clinical signs of external eye disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 172: 66-68.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standard M31-A2, 2nd ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, 2002. EUA: NCCLS.
- Obritsch, M. D., Fish, D. N., MacLaren, R. & Jung, R. (2005). Multidrug-Resistant *Pseudomonas Aeruginosa*: Frequency of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. New York: Mescap Med Students. Acedido em Mar 19, 2010, from Mescap Med Students website: <http://www.medscape.com/viewarticle/515330>
- Papich, M. G. (2001). *Current Concepts in Antimicrobial Therapy for Small Animals*. In *proceedings of 26th WSAVA congress*, Aug. 8 – 11, 2001, Vancouver, Canadá.

Acedido em Aug. 20, 2010 em:  
<http://www.vin.com/VINDBPub/SearchPB/Proceedings/PR05000/PR00191.htm>

- Papich, M. G. (2002). *New Advances in Antibiotic Treatment for Animals*. In proceeding of 27<sup>th</sup> WSAVA congress, Oct. 3 – 5, 2002, Granada, Espanha. Acedido em Jul. 20, 2010 em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2677>
- Papich, M. G. (2002). *Strategies for Using Antibiotics in Animals*. In proceeding of 27<sup>th</sup> WSAVA congress, Oct. 3 – 5, 2002, Granada, Espanha. Acedido em Jul. 20, 2010 em: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2676>
- Papich, M. G., Vaden, S. L. (1998) Antibioterapia práctica para clínicos. *Waltham Focus Volumen 8* (3) p. 10-16
- Peiffer, R. L. & Peterson-Jones, S. M. (Eds.). (2001). *Small Animal Ophthalmology: a problem-oriented approach*. (3rd ed.). London: W. B. Saunders.
- Petersen-Jones S M & Renwick P W. (2001). Orbital and ocular pain. In R. L. Peiffer & S. M. Peterson-Jones (Eds.), *Small Animal Ophthalmology: a problem-oriented approach*. (3rd ed.). London: W. B. Saunders. pp. 184-185, 192.
- Petersen-Jones S M, Stanley R G, Smith R I E & Smith J S. (2001). Ocular discharge. In R. L. Peiffer & S. M. Peterson-Jones (Eds.), *Small Animal Ophthalmology: a problem-oriented approach*. (3rd ed.). London: W. B. Saunders. pp.219- 220, 222, 233-234.
- Peterson-Jones, S. & Crispin, S. (2006). *Manual of small animal ophthalmology*. (2nd ed.). Barcelona: England Bsava Publications, British Small Animal Veterinary Association, pp.78-80, pp.143.
- Poeta, P. & Rodrigues, J. (2008). *Deteção da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de casos clínicos ocorridos em animais de companhia*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58 (6). Acedido em Abr. 29, 2010 em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000200037&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352008000200037&script=sci_arttext&tlng=es)
- Prado, M. R., Rocha, M. F. G., Brito, E. H. S., Girão, M. D., Monteiro, A. J., Teixeira, M. F. S. & J Sidrim, J. C. (2005). *Survey of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Fortaleza, Ceará, Brazil. Veterinary ophthalmology (Print)*, v. 8, n. 1, p. 33-37,
- Prado, M.R., Brito, E. H. S., Girão, M.D., Sidrim, J. J. C. & Rocha, M. F. G. (2006). *Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from corneal ulcers of dogs*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58 (6). Acedido em Abr. 20, 2010 em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09352006000600008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352006000600008)
- Riis, R. C. (2002). *Small animal ophthalmology secrets*. Philadelphia: Hanley & Belfus.
- Rito, I. Q. S. (2009). *Utilização da citologia conjuntival no diagnóstico da conjuntivite canina e felina*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Schwarz, S., Kehrenberg, C. & Walsh, T. R. (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob Agents*. 2001 Jun;17(6):431-7. Acedido em Abr. 27, 2010 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11397611>

- Slatter, D. (2001). *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. (3th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp. 44-52.
- Solari, H. P., Sousa, L. B., Freitas, D., Yu, M. C. Z., Höfling-Lima, A. L. (2004). *Características laboratoriais das ceratites e conjuntivites causadas por Streptococcus sp.* Acedido em Jun. 15, 2010 em: <http://www.scielo.br/pdf/abo/v67n5/22207.pdf>
- Stanley, R. G. (2007). *Management of corneal ulcers in small animals*. In Proceedings of WSAVA congress. 2007, Sydney, Australia. Acedido em Mai. 20, 2010 em :[http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/13\\_20070318025328\\_abs.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/13_20070318025328_abs.pdf)
- Todar, K. (2008). *Pseudomonas aeruginosa*. Wisconsin: Kenneth Todar. Acedido em Fev 7, 2010, from Todar's Online Textbook of Bacteriology website: <http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>
- Walker, R. D. (2006). Antimicrobial susceptibility testing methods and interpretation of results. In Giguère, Prescott, Baggot, Walker & Dowling (eds.) *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (4th Ed), pp. 11, 12, 14-16.
- Wang L., Qingshan P., Libo Z., Xue Q., Jun C. & Qi C. Investigation of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis. In *Veterinary Ophthalmology*, 2008, Beijing, China; 11: 145-149. Acedido em Mar. 19, 2010 em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/119420428/abstract>
- Weese, J. S. (2006). Prudent use of antimicrobials. In Giguère, Prescott, Baggot, Walker & Dowling (eds.) *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (4th Ed). pp. 437-443.
- Xu-whang Shiun, Xiao-Jung Lo & Ogawa-Lin. (2008). *Effectiveness of povidone-iodine to treat infectious conjunctivitis in dogs*. Acedido em Abr. 12, 2010, disponível em <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n010108.html>



## CAPÍTULO VII - ANEXOS

---

## **ANEXO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

O meu estágio curricular decorreu no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, tendo atingido 1156 horas. Durante o decorrer do mesmo, tive oportunidade de aprofundar e pôr em prática os conhecimentos adquiridos nos anos anteriores, no que respeita a clínica e cirurgia de animais de companhia. Participei activamente em consultas de medicina interna, cirurgias, realização de exames complementares de diagnóstico, nomeadamente exames imagiológicos (radiografia, Tomografia Axial Computorizada e ecografia), tratamentos e outros cuidados de animais internados. Colaborei ainda em consultas de especialidade de oftalmologia, que compreenderam cerca de 300 horas.

Na área de medicina interna, as actividades desempenhadas abrangiam a elaboração da história pregressa, o exame físico completo, a colheita de sangue e/ou urina, a contenção, a preparação e a administração de vacinas ou medicações, a colocação de cateteres, desinfecção de feridas, realização de testes rápidos de diagnóstico, de raspagens de pele, citologias, entre outros.

Em relação às tarefas realizadas aos animais internados, elas englobaram: alimentação, cuidados de bem-estar e higiene, administração de medicações, colocação de cateteres endovenosos, algaliação, realização de enemas, pensos, acompanhamento pós-cirúrgico e/ou em estada crítico, monitorização de parâmetros clínicos (cor das mucosas, tempo de repleção capilar (TRC), frequências cardíaca e respiratória, temperatura e pressão arterial).

Na área da cirurgia auxiliei na preparação dos pacientes, e desempenhei funções como circulante, anestesista e ajudante de cirurgião em cirurgias ortopédicas e de tecidos moles.

Realizei também actividades laboratoriais no laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina Veterinária, que consistiram na realização de culturas para isolamento de bactérias aeróbias e realização dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos, através do método de difusão em disco, de acordo com o preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, actividades estas, implicadas no âmbito do tema da Dissertação de Mestrado.

**ANEXOS 2 – FICHA OFTALMOLÓGICA PREENCHIDA DURANTE AS CONSULTAS DOS CASOS ESTUDADOS DURANTE O ESTÁGIO CLÍNICO.**

**FICHA OFTALMOLÓGICA**

Nº

Data: \_\_/\_\_/\_\_



**PACIENTE** Canídeo M/F Felídeo M/F Nome \_\_\_\_\_

Raça \_\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

Sinais Particulares: \_\_\_\_\_ Fotos \_\_\_\_\_

**PROPRETÁRIO** \_\_\_\_\_ Contacto \_\_\_\_\_

**História Clínica**

Sinais Oculares: \_\_\_\_\_

Tipo de Corrimento: Seroso / Mucoso / Purulento Unilateral / Bilateral

Início dos sintomas: \_\_\_\_\_ Agudo / Subagudo / Crónico

Evolução dos Sintomas: Estática / Progressão / Regressão / Intermitente / Episódica

Tratamento efectuado e/ou actual: \_\_\_\_\_

Resposta ao tratamento: \_\_\_\_\_

Outros dados relevantes: \_\_\_\_\_

**Exame Oftalmológico**

	OD	OE
R. Palpebral		
R. Ameaça		
R. Corneal		
R. Pupilar Directo		
R. Pupilar Consensual		
Teste de Schirmer		
Colheita de Amostras		
PIO		

**Explorações Adicionais**

---

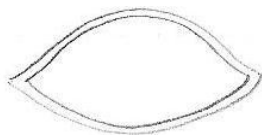
---

**Esquemática dos Sinais**

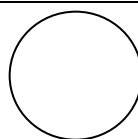
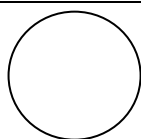
OD

OE

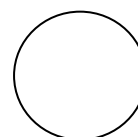
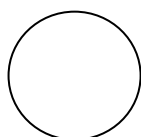
Pálpebras



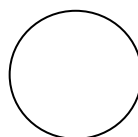
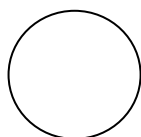
Córnea



Íris



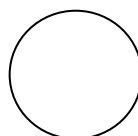
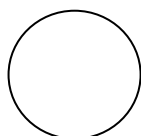
Cristalino



Vítreo

E

Fundo ocular



**Diagnóstico** \_\_\_\_\_

**Tratamento Instituído** \_\_\_\_\_

---

**Reavaliação/ Consulta de seguimento** \_\_\_\_\_

**Resultados das análises microbiológicas e Considerações** \_\_\_\_\_

---



## ANEXO 3 – PANFLETO ELABORADO DURANTE O ESTÁGIO PARA FORNECER AOS CLIENTES DA CONSULTA DE ESPECIALIDADE DE OFTALMOLOGIA



Faculdade de Medicina Veterinária  
Serviço de Oftalmologia

# Como lidar com um cão invisível



### FONTES:

[www.blinddogs.net](http://www.blinddogs.net)

[www.blinddogs.com/tips.htm](http://www.blinddogs.com/tips.htm)

[www.blinddogrescue.com](http://www.blinddogrescue.com)

[www.blinddoginfo.com](http://www.blinddoginfo.com)

[www.vetinfo.com/living-blind-dogs.html](http://www.vetinfo.com/living-blind-dogs.html)



Faculdade de Medicina Veterinária

Hospital Escolar  
Serviço de Oftalmologia

Prof. Dra. Esmeralda Delgado  
Aluna Estagiária Sandra Subtil

Março de 2010

### Ideias a reter:

- O seu animal não está em sofrimento.
- A visão ocupa o 3º lugar entre os sentidos mais importantes do cão, ficando atrás do olfacto e da audição.
- Lembre-se que nós levamos as coisas mais dramaticamente que ele, e ele percebe-se das nossas emoções!



- Tente agir o mais normal possível. Devolver-lhe confiança é a chave para o fazer crer de que pode ainda fazer várias coisas e de que o dono continua a gostar dele.

- Estimule os sentidos que ele tem; um cão cego vai apurar o seu olfacto, audição, paladar e tacto.
- Não altere a disposição da mobília se o cão vive dentro de casa; se o cão está no exterior, não planeie grandes alterações no quintal/jardim.
- Caso tenha piscina ou tanque, arranje uma cobertura ou crie uma vedação em redor para que o seu cão não caia dentro de água e se afogue por não encontrar as margens.
- Passeie o seu cão sempre com trela! Antecipe os possíveis problemas e guie-o tranquilamente. Não deixe de falar com ele pois a sua voz orienta-o. Caso o cão viva no exterior, crie uma “barreira invisível” e adapte-a ao seu animal (ver imagem abaixo).



- Alimente o seu animal e mantenha a taça de água exactamente no mesmo local, todos os dias. Este local tornar-se-á um lugar de referência, sempre que ele se desorienta.
- Coloque as cadeiras debaixo da mesa após as refeições. Coisas que sejam deixadas desarrumadas vão predispor a que o cão embata nelas.
- Se o animal se desorientar, leve-o até à cama dele ou à taça da comida/água; este é um ponto de referência que o vai orientar.
- Se tem um cão pequeno evite pegá-lo ao colo para o ajudar a encontrar a comida ou outras áreas. Ele precisa de aprender sozinho e pode ficar desorientado cada vez que é pegado ao colo e colocado no chão.
- No caso de animais idosos com menos audição, aproxime-se com passadas pesadas pois eles conseguem sentir vibrações.

- Use uma palavra para avisar o cão que o vai levantar, para que ele não se assuste. Exemplos: “colinho”, “p’ra cima”, “upa” ...
- Até que o seu animal se aperceba das escadas, deve colocar uma barreira para ele não cair.
- Tenha atenção aos objectos que podem ser perigosos à altura que estão, tanto em casa como no jardim. Ex: ramos que podem atingir os olhos e cantos pontiagudos de mesas ou móveis.
- Auxilie, encoraje e felicite-o para que continue a fazer o que fazia antes. Contudo compreenda quando ele não consiga, e felicite-o na mesma!



## ANEXO 4 – COMUNICAÇÃO EM PAINEL APRESENTADO NO 19º CONGRESSO NACIONAL DA APMVEAC, MAIO – 2010



### BACTERIOLOGIA OCULAR EM CANÍDEOS – ESTUDO RETROSPECTIVO 2002-2010



S. Subtil<sup>1</sup>, C. L. Vilela<sup>2</sup> & E. Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aluna Estagiária do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, UTL

<sup>2</sup>CIISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa

O objectivo deste estudo foi avaliar a flora microbiana de cães com sinais de doença ocular externa na amostra em estudo e o seu padrão de susceptibilidade a agentes antimicrobianos.

Os isolados bacterianos, num total de 96, foram obtidos a partir de zaragoas efectuadas a 76 canídeos com sinais de doença ocular externa. As zaragoas estéreis foram friccionadas suavemente no fundo de saco conjuntival ou sobre a córnea e processadas no laboratório de bacteriologia da FMV/UTL, entre Janeiro de 2002 e Março de 2010. Os testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos foram realizados pelo método de difusão em disco (NCCLS, 2002; CLSI, 2008).



Fig. 1 – Conjuntivite bacteriana com abundante corrimento mucopurulento.

Fig. 2 – Colheita de amostra para análise bacteriológica.

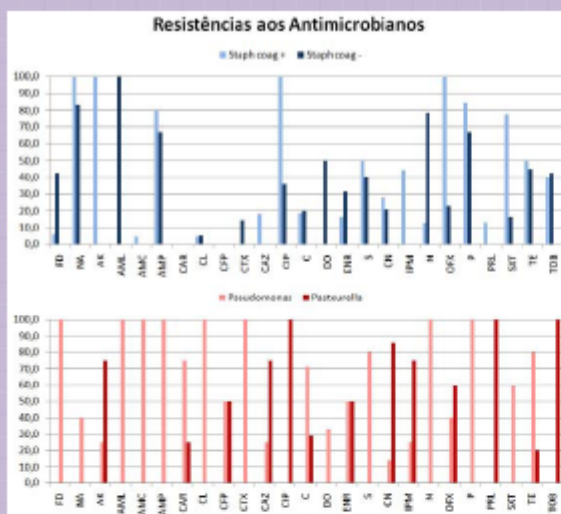


Gráfico 1- Percentagem de isolados resistentes aos agentes antimicrobianos testados.

As bactérias isoladas foram sobretudo Gram-positivas (76,9%), o género predominante foi *Staphylococcus* sp. (45%) e as espécies mais frequentes foram *Staph. aureus*, *Staph. pseudintermedius* e *Streptococcus canis*, numa percentagem equitativa de 13,2%. Das bactérias Gram-negativas, o género mais frequentemente isolado foi *Pseudomonas* sp. (9,9%), e dentro deste, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (6,6%). Foi observada resistência a pelo menos um fármaco em 93,5% dos isolados. Todos os staphylococci coagulase positivos testados revelaram-se resistentes a amicacina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina e ofloxacina. Todos os staphylococci coagulase negativos revelaram-se resistentes à associação amoxicilina/ácido clavulânico e à doxiciclina. O género *Pasteurella* sp. (4,4%) apresentou resistências à ciprofloxacina, piperacilina e tobramicina. Oito fármacos (32%) revelaram-se ineficazes contra o género *Pseudomonas* sp., tendo este apresentado total sensibilidade à ciprofloxacina e à piperacilina.

O estudo mostrou que os microrganismos mais prevalentes em doenças oculares externas de canídeos na população em estudo, foram staphylococci, streptococci, *Pseudomonas* sp. e *Pasteurella* sp.. Os perfis de susceptibilidade dos isolados mostram elevadas taxas de resistência face a alguns dos princípios activos utilizados em terapêutica. A identificação de multirresistências vem reforçar a importância da realização de culturas microbianas e testes de susceptibilidade a agentes antimicrobianos, de forma a escolher a terapêutica mais apropriada.

Agradecimentos: CIISA (Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal).

19º Congresso Nacional da APMVEAC  
Lisboa 2010

## ANEXO 5 – RESULTADOS DOS ISOLADOS BACTERIANOS E RESPECTIVAS PERCENTAGENS

	Nº	%		Nº	Espécie bacteriana	Nº	%
<b>Anaeróbio</b>	1	1,1	Anaeróbio estrito CN	1	<i>Veilonella</i> sp.	1	1,1
<b>BP</b>	8	8,79		8	<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1	1,1
					<i>C. ulcerans</i>	1	1,1
					<i>Corynebacterium</i> sp.	6	6,6
<b>BN Ox-</b>	5	5,49	<i>Enterobactere acea</i>	5	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	1,1
					<i>E. coli</i>	1	1,1
					<i>Enterobacter</i> sp.	1	1,1
					<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2,2
<b>BN Ox +</b>	15	16,48	<i>Pseudomonas</i>	11	<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2,2
					<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6,6
					<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2	2,2
					<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	1,1
			<i>Pasteurella</i>	4	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	1	1,1
					<i>Pasteurella</i> sp.	2	2,2
					<i>Pasteurella multocida</i>	1	1,1
<b>CP Cat+</b>	41	45,05	SCP	25	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	12	13,2
					<i>Staphylococcus aureus</i>		13,2
					<i>Staphylococcus β-hemolítico</i>	1	1,1
			SCN	16	<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	1,1
					<i>Staphylococcus</i> sp.	8	8,8
					<i>Staphylococcus chromogenes</i>	4	4,4
					<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1,1
					<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	1,1
					<i>Staphylococcus simulans</i>	1	1,1
<b>CP Cat -</b>	21	23,08	<i>Streptococcus</i>	19	<i>Streptococcus canis</i>	12	13,2
					<i>Streptococcus</i> sp.	6	6,6
					<i>Streptococcus mitis</i>	1	1,1
			<i>Enterococcus</i>	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,1
			<i>Aerococcus</i>	1	<i>Aerococcus viridans</i>	1	1,1
<b>Total</b>				91			100

Legenda – **BP** → Bacilos Gram-positivos; **BN Ox -** → Bacilos Gram-negativos oxidase negativos; **BN Ox +** → Bacilos Gram-negativos oxidase positivos; **CP Cat +** → Coccus Gram-positivos catalase negativos; **CP Cat -** → Coccus Gram-positivos catalase negativos; **SCP** → *Staphylococcus* coagulase positivos; **SCN** → *Staphylococcus* coagulase negativos.



## ANEXO 6 – COMUNICAÇÃO EM PAINEL APRESENTADA NO 24º CONGRESSO ANUAL ECVD-ESVD, FLORENÇA, ITÁLIA, 2010

### Conjunctival provocation tests in atopic dogs spontaneously sensitized to *Dermatophagoides farinae* and to *Dermatophagoides pteronyssinus*



A.M. Martins<sup>1</sup>, J.H. Duarte Correia<sup>1</sup>, M.C. Peleteiro<sup>1</sup>, M. Morais-Almeida<sup>2</sup>, S. Subtil<sup>3</sup>, E. Delgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CISA, Faculty of Veterinary Medicine, Technical University of Lisbon (FMV-UTL), Lisbon, PORTUGAL

<sup>2</sup> Immunology Unit, Hospital, CUF-Desobertas, Lisbon, PORTUGAL

<sup>3</sup> Teaching Hospital, FMV-UTL, Lisbon, PORTUGAL

amartins@fmv.utl.pt



#### Purpose:

Conjunctival provocation test (CPT) is considered a specific and valuable tool to assess allergen contribution in allergic conjunctivitis in man. The European Medicines Agency (EMA) states that for Man the CPT is a validated model for studying allergic conjunctivitis. The provoked reaction can be used to evaluate any allergic topical ocular products, with the benefit of the patient's contralateral eye acting as his/her own control. To our knowledge it has not been used in dogs with spontaneous canine atopic dermatitis (CAD). We intend to evaluate the usefulness of CPT in the etiologic diagnosis of allergic conjunctivitis in atopic dogs sensitized to house dust mites.

#### Methods:

18 dogs with CAD sensitized to *Dermatophagoides farinae* (Df) and 12 dogs sensitized to *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) were enrolled and CPT performed for the mite they were sensitized for. None of the dogs with CAD was having a flare of its allergy. A control group of non-atopic dogs (n=12) also underwent CPT with Df and Dp at different times. Aquagen diluent was used as the negative control and a single drop (50 µl) was placed in the left conjunctival sac. A drop of successively stronger testing solutions was placed in the right conjunctival sac at 15-min intervals. Both eyes were inspected for conjunctival hyperemia, chemosis and epiphora and each reaction scored as absent = 0, mild = 1, moderate = 2 or severe = 3. Ocular pruritus was also evaluated, using a scale with an extra score, extremely severe = 4. CPT was considered positive if the score was equal or higher to 5 (maximum 13) and implied no further testing. The study was approved by the ethical committee of our faculty.



Pre-CPT ocular evaluation

	score
Pruritus	0
Hyperemia	0
Chemosis	0
Epiphora	0
Total	0



15 Minutes after the instillation of the first dilution (0,0001%)

	score
Pruritus	0
Hyperemia	2
Chemosis	1
Epiphora	1
Total	4



15 Minutes after the instillation of the second dilution (0,001%)

	score
Pruritus	1
Hyperemia	3
Chemosis	3
Epiphora	1
Total	7

Fig 1. Example of a CPT positive test in a dog with CAD.



Fig 2 and 3. Right and left eye of a severely affected atopic dog before provocation test.

#### Results:

All the patients sensitized to Df were positive on the CPT (18/18), with a medium score of  $7.2 \pm 0.31$ . In the Dp group 11/12 patients were positive on CPT and the value obtained was  $7.0 \pm 0.72$ . In the control group all dogs were negative on CPT (12/12), presenting a medium score of  $2.2 \pm 0.42$ . A very significant relation ( $p < 0.001$ ; Fisher exact test) was found between the presence of dust mite sensitization and positive CPT, showing a causal relationship between these allergens and the ocular signs in these patients. Adverse side effects were noticed only in two dogs from the test group sensitized to Df. These dogs showed sudden exacerbation of their atopic state. Both dogs had marked increases on CADESI-03 and pruritus (ocular and global). In both cases, the dogs had initial CADESI-03 values compatible with severe disease (CADESI-03 of 126 and 153), an ocular score of 5 and 7 and no corneal involvement in any of the cases. An oral anti-inflammatory therapy was prescribed (Prednisolone, 1mg/Kg/SID, 5 days) and 3 days after the episode they were both controlled and therapy was discontinued.

#### Conclusions:

CPT showed to be a promising tool for the etiologic diagnosis of allergic conjunctivitis in CAD patients, especially for those with significant eye symptoms. In CPT absorption by the conjunctiva, as well as exposure of the respiratory mucosa from nasal cavity to allergens due to transport through the nasolacrimal duct, can probably result in an increased allergen exposure. The identification of the cause of allergic conjunctivitis by CPT will allow a better understanding of this disease, and opens new therapeutic monitoring tools. Little is known about eye allergy in the dog. It seems to have features that resemble their human counterparts, lifting the veil for a possible suitable model for the study of this disease in Man. But first, a better characterization of this disease in the dog is needed, and would probably benefit from uniform diagnostic criteria and use of CPTs, maybe more properly designated by conjunctival allergen tests. Nevertheless further studies with larger populations and other allergens are needed to completely establish the usefulness of CPT in dogs with ocular allergy.

Support: FCT, CISA (Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde Animal) and Alk-Abelló

FCT Fundação para a Ciência e a Tecnologia  
investigação científica, tecnologia e inovação

ESVD-ECVD Florence, September 2010